

**β -CAROTIN-STOFFWECHSEL
DES RINDES: VERTEILUNG
AUF DIE SERUMLIPOPROTEINE,
TRANSFER IN DIE MILCH
UND IN DIE FOLLIKELFLÜSSIGKEIT
SOWIE FUNKTION IM FOLLIKEL**

Florian J. Schweigert

*Dies
d'Ambrin
1906*

β -CAROTIN-STOFFWECHSEL
DES RINDES: VERTEILUNG
AUF DIE SERUMLIPOPROTEINE,
TRANSFER IN DIE MILCH
UND IN DIE FOLLIKELFLÜSSIGKEIT
SOWIE FUNKTION IM FOLLIKEL



Florian J. Schweigert



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547927_0079

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

**B-CAROTIN-STOFFWECHSEL DES RINDES: VERTEILUNG AUF
DIE SERUMLIPOPROTEINE, TRANSFER IN DIE MILCH UND IN DIE
FOLLIKELFLOSSIGKEIT SOWIE FUNKTION IM FOLLIKEL**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
FLORIAN J. SCHWEIGERT
aus
München

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. H. Zucker

Korreferent: Prof. Dr. M. Rüsse

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

Meinen Eltern
und
meiner Schwester

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
1 EINLEITUNG und PROBLEMSTELLUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 β -Carotin	3
2.1.1 Transport	3
2.1.2 Ausscheidung von β -Carotin über die Milch	5
2.1.3 β -Carotin und Fruchtbarkeit	6
2.2 Vitamin A	8
2.2.1 Carotinase	8
2.2.2 Transport	8
2.2.3 Bedeutung von Vitamin A	9
2.3 Lipoproteine	10
2.3.1 Chylomikronen	10
2.3.2 Very Low Density Lipoproteine (VLDL)	11
2.3.3 Low Density Lipoproteine (LDL)	12
2.3.4 High Density Lipoproteine (HDL)	12
2.3.5 Lipidtransportierende Proteine	12
2.3.6 Lipoproteinstoffwechsel	13
2.3.7 Auftrennung der Serumlipoproteine	14
2.4 Follikelflüssigkeit	16
2.4.1 Elektrolyte	16
2.4.2 Proteine	16
2.4.3 Vitamine	17
2.4.4 Hormone	18

EIGENE UNTERSUCHUNGEN	19
3 MATERIAL und METHODEN	19
3.1 Tiere	19
3.2 Probennahme und Probenkonservierung	19
3.3 β -Carotin- und Vitamin-A-Bestimmung im Serum und in der Follikelflüssigkeit	24
3.4 β -Carotin- und Vitamin-A-Bestimmung in der Milch	25
3.5 Ausfällung der VLDL/LDL-Fraktion des Serums	26
3.6 Auftrennung der VLDL/LDL-Fraktion durch Ultrazentrifugation	28
3.7 Ermittlung des β -Carotin-Gehaltes in den einzelnen Fraktionen	29
3.8 Auftrennung der Lipoproteinfraktionen in der Follikelflüssigkeit	30
3.9 Statistik	30
4 ERGEBNISSE	31
4.1 Methodik	31
4.2 Versuch I	33
4.2.1 β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum und in der Milch	33
4.2.2 Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen	36
4.3 Versuch II	38
4.3.1 β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum, im Kolostrum und in der Milch	38
4.3.2 Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen	38

III

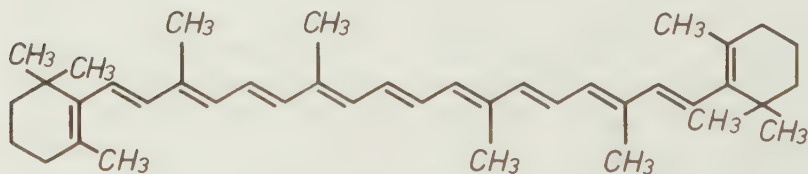
4.4	Versuch III	42
4.4.1	β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum	42
4.4.2	β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit	43
4.4.3	β -Carotin- und Vitamin-A-Bindung in der Follikelflüssigkeit	46
4.5	Versuch IV	47
4.5.1	β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in Follikeln unterschiedlicher Qualität	47
5	DISKUSSION	49
5.1	Methodik	49
5.2	β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum und in der Milch	50
5.3	Verteilung von β -Carotin auf die Lipo- proteinfraktionen im Serum und in der Follikelflüssigkeit sowie Transfer in das Kolostrum und die Follikelflüssigkeit	52
5.4	β -Carotin- und Vitamin-A-Stoffwechsel des ovariellen Rinderfollikels	58
5.5	Schlußfolgerung	64
6	ZUSAMMENFASSUNG SUMMARY	66 68
7	LITERATURVERZEICHNIS	70
8	TABELLENANHANG	84

Den Carotinoiden kommt in der Natur als weitverbreiteten Pigmentträgern wie auch als Vorstufen von Vitamin A eine große Bedeutung zu. Die Entdeckung ihrer Funktion als Vitamin-A-Vorstufe von MOORE (1930) führte dazu, daß eine Ergänzung der Futtermittel mit Vitamin A als ausreichend betrachtet wurde und Carotinoide als Futterzusatz beim Rind vernachlässigt blieben. Erst die Hypothese von BROGGEMANN und NIESAR (1956) und die bestätigenden Ergebnisse von LOTTHAMMER (1978) über eine eigenständige Wirkung von β -Carotin auf die Fruchtbarkeit von Rindern gaben der Carotinforschung auf veterinärmedizinischem Gebiet neue Impulse. Von humanmedizinischer Seite wird die Notwendigkeit einer verstärkten Erforschung der Carotine durch Ergebnisse unterstrichen, die eine Beeinflussung gewisser Tumorarten durch Carotin vermuten lassen (PETO et al., 1981; MATHEWS-ROTH, 1982). Die möglicherweise lokale Wirkung von β -Carotin setzt eine ausreichende Versorgung der peripheren Organe mit β -Carotin voraus. Eine Untersuchung des Transportes von β -Carotin im Serum und seines Transfers in die peripheren Organe ist deshalb notwendig.

Ziel dieser Arbeit war es zu klären, in welcher Verteilung auf die Lipoproteinfraktionen β -Carotin den peripheren Geweben zur Verfügung steht, um festzustellen welche Lipoproteinfraktion für den Transfer von β -Carotin aus dem Blut in die Gewebe zuständig ist. Als besonders geeignet zur Beantwortung dieser Fragestellung erschien das Euter-gewebe während der Kolostralphase, da hier innerhalb kürzester Zeit große β -Carotin-Mengen von den Milchdrüsen-zellen aufgenommen und in das Kolostrum abgegeben werden.

Die Frage nach dem Transfer von β -Carotin aus dem Blut in die peripheren Gewebe führte zu der Überlegung, ob nicht die Follikelflüssigkeit, die ein vom Blutstrom getrenntes Kompartiment darstellt, einen weiteren Ansatzpunkt zur Untersuchung des β -Carotin-Transfers böte. Im Gegensatz zur Milch war eine Bindung von β -Carotin an Lipoproteine ähnlich dem Serum wahrscheinlich. Untersuchungen darüber gab es bis jetzt nicht. In diesem Zusammenhang schien mir eine Untersuchung der β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit sinnvoll, um festzustellen, ob eine Abhängigkeit vom ovariellen Zyklusstand, von der Follikelgröße und der Follikelqualität besteht. Konzentrationsänderungen von β -Carotin und Vitamin A in der Follikelflüssigkeit, dem Nährmedium der Oozyte, würden möglicherweise eine Aussage darüber zulassen, welche Bedeutung Vitamin A und seine Vorstufe β -Carotin für die Entwicklung der follikulären Strukturen besitzt.

Abb. 1: Strukturformel für β -Carotin



2 LITERATUROBERSICHT

2.1 β -Carotin

Bei den Säugern werden, je nachdem ob der Körper in der Lage ist, Carotinoide zu speichern oder nicht, zwei Gruppen unterschieden. Zu der Gruppe der Säuger, die Carotinoide speichern, gehören Mensch und Rind. Im Gegensatz zum Menschen jedoch, der Carotine und Xanthophylle speichern kann, findet man beim Rind fast ausschließlich Carotine. An den mit dem Futter aufgenommenen Carotinen hat β -Carotin einen Anteil von 95 %. Dieses Verhältnis findet sich auch im Organismus des Rindes (TIEWS, 1961). Im folgenden soll deshalb nur β -Carotin (Abb. 1) berücksichtigt werden.

2.1.1 Transport

Das absorbierte β -Carotin wird an Chylomikronen gebunden und über den Ductus thoracicus dem Blutstrom zugeführt. Im Blut wird es von den Lipoproteinen transportiert. Hinsichtlich der Verteilung des β -Carotins auf die einzelnen Lipoproteinfraktionen gibt es grundlegende Unterschiede zwischen Mensch und Rind. MATHEWS-ROTH und GULBRANDSEN (1974) stellten fest, daß beim Menschen 12 % des β -Carotins von der "very low density lipoprotein" (VLDL)-Fraktion, 79 % von der "low density lipoprotein" (LDL)-Fraktion und 8 % von der "high density lipoprotein" (HDL)-Fraktion transportiert werden. Diese Verteilung auf die einzelnen Lipoproteinfraktionen war unabhängig von der Höhe des β -Carotin-Spiegels im Blut.

Für das Rind zitieren PATTON und KELLY (1980) eine unveröffentlichte Arbeit von RAPHAEL und PATTON, in der festgestellt wird, daß alle drei Lipoproteinfraktionen (VLDL/ LDL/HDL) am Transport von β -Carotin beteiligt sind. ASHES et al. (1982) fanden bei Kühen mit verschiedenen Fütterungsdiäten alles β -Carotin in der HDL-Fraktion. KURZ et al. (1984) konnten nachweisen, daß unabhängig vom β -Carotin-Spiegel im Blut und unabhängig von der Ausscheidung von β -Carotin über die Milch etwa 6-9 % des β -Carotins im Serum von der VLDL/LDL-Fraktion und 90 % von der HDL-Fraktion transportiert werden.

Hinsichtlich der Bindung von β -Carotin an die Lipoproteine vermuten ASHES et al. (1984) eine Einlagerung von β -Carotin in den Lipidkern der Lipoproteine, wobei die Kapazität des HDL-Moleküls von dessen Größe abhängt. Im Gegensatz dazu gehen KRINSKY et al. (1958) von einer spezifischen Bindungsform aus, da sich beim Menschen β -Carotin und Lutein in der Verteilung auf die Lipoproteinfraktionen wesentlich unterscheiden.

Der β -Carotin-Blutspiegel steht in enger Beziehung zur Versorgung des Rindes mit β -Carotin über das Futter. Dadurch kommt es zu einer von der Jahreszeit abhängigen starken Schwankung der β -Carotin-Konzentration im Blut. Beim Weidegang im Sommer liegt sie um ein Vielfaches höher als im Winter (KURZ et al., 1984). Neben den fütterungsbedingten Schwankungen hat auch die Geburt einen wesentlichen Einfluß auf den β -Carotin-Blutspiegel des Muttertieres. Bei der Geburt fällt die β -Carotin-Konzentration im Serum merklich ab und erreicht etwa 2 bis 3 Wochen nach der Geburt wieder die ursprünglichen Werte (BURGSTALLER et al., 1980).

Im Gegensatz zum Muttertier liegt beim neugeborenen Kalb die β -Carotin-Konzentration im Serum unter $5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (BURGSTALLER et al., 1980). Dieser niedrige Wert, der durch eine schlechte diaplacentare Passage verursacht wird, steigt nach der ersten Kolostrumaufnahme rasch an (TIEWS, 1958).

2.1.2 Ausscheidung von β -Carotin über die Milch

Neben der Resorption im Darm und dem Abbau zu Vitamin A stellt die Ausscheidung über die Milch eine den β -Carotin-Blutspiegel des Rindes wesentlich beeinflussende Größe dar. Zwischen der Konzentration von β -Carotin im Blut und der Ausscheidung über die Milch besteht eine signifikante Korrelation. Bei steigender β -Carotin-Konzentration im Blut kommt es in der Milch zu einer Plateaubildung in Höhe von $30\text{-}40 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (STAMPFER & ZUCKER, 1983).

Davon abweichend liegt die Konzentration im Kolostrum deutlich über dem Plateau in der Milch. Wie die Immunglobuline (NEWSTEAD, 1976) sind auch Vitamin A und β -Carotin im Kolostrum auf das Zehn- bis Fünfzehnfache erhöht und erreichen innerhalb von 8 bis 10 Tagen wieder Normalwerte (CHANDA, 1953 a; KONERMANN & ABU EL FADLE, 1966; ZUCKER et al., 1980).

Auch bei pathologischen Zuständen des Euters, wie Mastitiden unterschiedlicher Intensität, kommt es zu einem Anstieg der β -Carotin-Konzentration im Gemelk der erkrankten Euterviiertel (CHANDA, 1953 b; ÖZPINAR et al., 1984).

2.1.3 β -Carotin und Fruchtbarkeit

Eine spezielle physiologische Wirkung des β -Carotins auf das Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes postulierten erstmals BRÜGGEMANN und NIESAR (1956). Ihre Hypothese wurde in einer Serie von fünf Veröffentlichungen (MEYER et al., 1975; LOTTHAMMER et al., 1976; LOTTHAMMER & AHLWEDE, 1977; SCHAMS et al., 1977; AHLWEDE & LOTTHAMMER, 1978) über die spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes bestätigt. Folgende Störungen wurden bei der β -Carotin-Mangelgruppe festgestellt:

Stille Brunst oder schwach ausgeprägte Brunstsymptome bei langer Brunstdauer (LOTTHAMMER et al., 1976).

Verzögerte Ovulation mit einer Verlängerung des Zeitraums zwischen dem präovulatorischen LH-Peak (luteinisierendes Hormon) und der Ovulation von 20,4 Stunden bei der Kontrollgruppe auf 44,5 Stunden bei der β -Carotin-Mangelgruppe. Als Ursache hierfür wird eine verminderte Synthese gewisser proteolytischer Enzyme diskutiert, die, wie z.B. die Kollagenasen, für die Auslösung der Ovulation notwendig sind (SCHAMS et al., 1977).

Vermehrtes Auftreten von Follikel- und Corpus luteum-Zysten (MEYER et al., 1975; LOTTHAMMER et al., 1976).

Diese Störungen des Reproduktionsgeschehens haben eine Verschlechterung der Fruchtbarkeitslage zur Folge. So stieg die Zahl der notwendigen Inseminationen je Trächtigkeit von 1,42 bei der Kontrollgruppe auf 2,00 bei der β -Carotin-Mangelgruppe (LOTTHAMMER et al., 1976).

ZUCKER et al. (1980) konnten die Ergebnisse hinsichtlich eines vermehrten Auftretens von Zysten und einer Verlängerung des Intervalls zwischen LH-Peak und Ovulation bestätigen.

Im Gegensatz zu diesen Berichten stehen die Ergebnisse der Untersuchungen von FOLMAN et al. (1979), die bei gleicher Versuchsanordnung wie LOTTHAMMER (1978) keine Verschlechterung der Fruchtbarkeitslage der β -Carotin-Mangelgruppe feststellen konnten. Diese gegensätzlichen Ergebnisse werden z.T. durch eine unterschiedliche Methode der Brunsterkennung und durch eine andere Besamungstechnik erklärt. FOLMAN et al. (1979) benutzten zur Brunsterkennung einen Suchbullen und führten eine zweimalige Besamung im Abstand von 12 Stunden durch. Bei LOTTHAMMER (1978) dagegen wurde auf Grund des rektalen Befundes einmal besamt.

Der Nachweis eines carotinspaltenden Enzyms im Corpus luteum scheint auf eine Provitamin-A-Funktion des β -Carotins im Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes hinzuweisen (SKLAN, 1983).

2.2 Vitamin A

Mensch und Tier nehmen Vitamin A entweder in Form von Carotin, dem pflanzlichen Provitamin A, auf oder als bereits vorgebildetes Vitamin A aus tierischen Quellen, wie Leber und Milch.

2.2.1 Carotinase

β -Carotin wird vor allem im Dünndarmepithel durch eine β -Carotin 15,15' Dioxygenase an einer bevorzugt zentralen Doppelbindung in Retinal überführt (GANGULY & SASTRY, 1985). Retinal wird dann durch ein weiteres Enzym zu Retinol reduziert. Die Carotinase konnte auch in der Leber, der Niere (OLSON & HAYAISHI, 1965), dem Euter (BRÜGGEMANN & NIESAR, 1955) und im Corpus luteum (SKLAN, 1983) nachgewiesen werden. Dieses Enzym fehlt jedoch dem bis zu sechs Wochen alten Kalb (LUNDQUIST & PHILLIPS, 1943) und der Katze (GERSHOFF et al., 1957).

2.2.2 Transport

Als Retinylester gelangt das Vitamin A, gebunden an die Chylomikronen, in die Leber, um dort als Retinylpalmitat gespeichert zu werden. In das Blut wird Vitamin A als Retinol je nach Bedarf abgegeben. Die Serumkonzentration von Vitamin A unterliegt einem komplizierten Regelmechanismus, an dem das "retinol-binding protein" (RBP) als Transportprotein wesentlich beteiligt ist. Zur Verminderung der renalen Ausscheidung verbindet sich das in der Leber gebildete RBP mit Präalbumin (PA) zu einem Komplex mit einem Molekulargewicht von 75 000 daltons. Unter physiologischen Bedingungen unterliegt die Vitamin-A-

Konzentration des Serums nur geringen Schwankungen, selbst wenn es zu deutlichen Verschiebungen im Speicherorgan Leber kommt. Neben dem an das RBP gebundenen Retinol gibt es beim Menschen Retinylester, die im Serum an Lipoproteine gebunden sind, wobei ihr Anteil maximal 5 % beträgt. Diese Bindung an Lipoproteine macht Vitamin A für biologische Membranen besser verfügbar. Steigt der Anteil von lipoproteingebundenem Vitamin A an, so kommt es zur Vitamin-A-Intoxikation. Dies zeigt, daß das RBP neben seiner Funktion als spezifisches Transportprotein einen wesentlichen Schutzmechanismus darstellt (Übersicht bei SMITH & GOODMAN, 1979). Im Zielgewebe wird der RBP/PA-Komplex an spezifische Rezeptoren gebunden. Im Zellinneren wird das Retinol dann von einem zellulären RBP übernommen (CHYTIL & ONG, 1979).

2.2.3 Bedeutung von Vitamin A

Vitamin A hat verschiedene lebenswichtige Funktionen im Organismus. Neben der Erhaltung des allgemeinen Wachstums, der Gewährleistung der Sehfunktion und des Einflusses auf die Differenzierung der epithelialen Gewebe ist es auch für die Fortpflanzung von Bedeutung (Übersicht bei DE LUCA, 1978). Der Wirkungsmechanismus von Vitamin A wird jedoch, abgesehen vom Sehvorgang (WALD, 1968), erst ansatzweise verstanden. Im Fruchtbarkeitsgeschehen führt ein Mangel an Vitamin A zu funktionellen und histologischen Veränderungen, die durch Retinol, nicht aber durch Retinsäure normalisiert werden können (THOMPSON et al., 1964). Auf molekularer Ebene beeinflußt Vitamin A die m-RNS-Synthese und damit auch die Proteinsynthese (Übersicht bei WOLF, 1984). Bei diesen Vorgängen scheint Vitamin A einen den Steroidhormonen ähnlichen Wirkungsmechanismus zu besitzen (ONG & CHYTIL, 1975).

2.3 Lipoproteine

Der Transport der meisten lipophilen Substanzen, wie Cholesterin, Vitamin E und Carotinoiden, wird im wäßrigen Milieu des Blutes durch die Verbindung dieser Substanzen mit Apoproteinen zu Lipoproteinverbindungen ermöglicht. Die Lipoproteine lassen sich aufgrund ihrer Dichte, ihrer Lipidzusammensetzung und ihrer Wandereigenschaften im elektrischen Feld in mehrere Klassen einteilen. Mit zunehmender Dichte unterscheidet man:

- Chylomikronen
- Very Low Density Lipoproteine (VLDL)
- Low Density Lipoproteine (LDL)
- High Density Lipoproteine (HDL)

2.3.1 Chylomikronen

Berichte über das Vorhandensein von Chylomikronen beim Rind sind widersprüchlich (GRIEL & McCARTHY, 1969; FERRERI & ELBEIN, 1982). Auf Grund des geringen Fettgehaltes im Rinderfutter (max. 5 %) und wegen der kontinuierlichen Fettabsorption im Verdauungstrakt des Rindes kann man davon ausgehen, daß eventuell vorhandene Chylomikronen wegen ihrer geringen Menge nicht nachgewiesen werden können (HARTMANN et al., 1966). Bei Milchkälbern dagegen, die bis zu 50 % ihrer Energie in Form von Fett zugeführt bekamen, konnten Teilchen elektronenmikroskopisch festgestellt werden, die die Größe von Chylomikronen besaßen (CHAPLIN & PALMQUIST, 1971).

2.3.2 Very Low Density Lipoproteine (VLDL)

Die VLDL-Fraktion hat eine Dichte von weniger als 1,006 g/ml (RAPHAEL et al., 1973). Mit 94 % besitzt sie - abgesehen von den Chylomikronen - den höchsten Lipidanteil (STEAD & WELCH, 1975) und beteiligt sich mit etwa 5 % am Transport des Gesamtfettes. Bei der Milchfettsynthese spielt sie eine wesentliche Rolle (s. 2.3.6). Ihr Proteinanteil von etwa 6 % besteht aus Apoprotein B und Apoprotein C (JENSEN & PITAS, 1976). Die Zusammensetzung des Lipidanteiles der VLDL-Fraktion und der anderen Lipoproteinfraktionen ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tab. 1: Lipidzusammensetzung der Lipoproteinfraktionen des Rindes

	Lipidgehalt mg/100 ml	TG	PL	CE %	CF	FFS
VLDL	8	61	18	5	8	8
LDL	41	11	29	48	10	2
HDL	380	1	40	52	5	2

nach STORRY et al., 1980

Abkürzungen: TG: Triglyceride; PL: Phospholipide;
CE: verestertes Cholesterin; CF: freies
Cholesterin; FFS: freie Fettsäuren

2.3.3 Low Density Lipoproteine (LDL)

Die LDL-Fraktion wird dem Dichtebereich zwischen 1,006 g/ml und 1,063 g/ml zugeordnet. Wegen des nicht einheitlichen Wanderverhaltens im elektrischen Feld wird noch eine HDL₁-Fraktion ($d = 1,040 - 1,063$ g/ml) unterschieden (RAPHAEL et al., 1973). Der Proteinanteil von 20 % besteht fast ausschließlich aus Apoprotein B (JENSEN & PITAS, 1976).

2.3.4. High Density Lipoproteine (HDL)

Der Dichtebereich der HDL-Fraktion liegt zwischen 1,063 g/ml und 1,210 g/ml. Mit bis zu 76 % transportiert diese Fraktion den größten Teil des Gesamtfettes im Blut (RAPHAEL et al., 1973). Sie setzt sich zu 72 % aus Fett und zu 28 % aus Protein zusammen (STEAD & WELCH, 1975). Der Proteinanteil besteht aus Apoprotein A₁ und Apoprotein C (JENSEN & PITAS, 1976). Im Gegensatz zur VLDL- und LDL-Fraktion besitzt die HDL-Fraktion keine oder nur Spuren von Triglyceriden (STORRY et al., 1980; RAPHAEL et al., 1973).

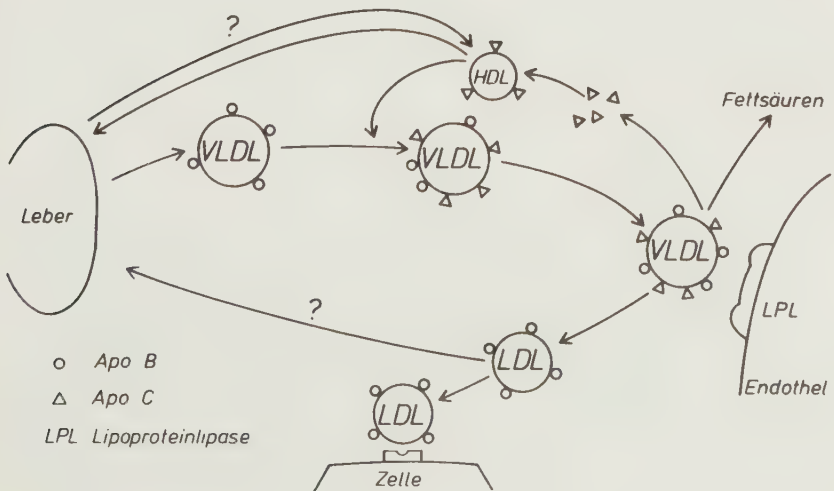
2.3.5 Lipidtransportierende Proteine

Außer den eigentlichen Lipoproteinen gibt es im Serum weitere Proteine, die in der Lage sind, Lipide zu binden und zu transportieren. Neben dem Albumin, das freie Fettsäuren reversibel binden kann (FREDRICKSON & GORDON, 1958), stellt das "retinol-binding protein" (RBP) ein hochspezialisiertes Transportprotein für das Vitamin A dar (s. 2.2.2).

2.3.6 Lipoproteinstoffwechsel

In Abbildung 2 wird der Stoffwechsel der Lipoproteine schematisch dargestellt. Dem in der Leber gebildeten VLDL fehlt zunächst noch das Apoprotein C (Apo C), das im Blut von HDL auf VLDL übertragen wird. Diese Übertragung ist für den Abbau von VLDL wichtig, da Apoprotein C die Lipoproteinlipase aktiviert und es folglich im Euter und im Fettgewebe zur Hydrolyse der Triglyceride kommen kann (JENSEN & PITAS, 1976). Beim Abbau verliert das VLDL-Makromolekül fast alle Triglyceride und einen Teil des Cholesterins; Apoprotein C wird wieder auf HDL zurücküber-

Abb. 2: Lipoproteinstoffwechsel nach PALMQUIST (1976) und GOLDSTEIN und BROWN (1977)



tragen. Als Ergebnis dieses Abbaus entsteht LDL, das über spezifische Rezeptoren der Zelloberfläche gebunden und in die Zelle aufgenommen werden kann. Die Aufnahme von LDL dient vor allem der Versorgung der Zelle mit Cholesterin zur Membransynthese (GOLDSTEIN & BROWN, 1977) oder zur Steroidhormonbildung (STRAUSS et al., 1981). Über die Bildung, die Funktion und den Abbau von HDL ist wenig bekannt. Man geht jedoch davon aus, daß es eine Funktion als Mittler und Speicher von Apoprotein C besitzt. Folglich kommt es nach der Fettabsorption zu einer deutlichen Verschiebung von Apoprotein C von der HDL-Fraktion zur Chylomikronen- und VLDL-Fraktion (HAVEL et al., 1973). Der Nachweis, daß VLDL sowohl beim Rind als auch bei der Ziege als Substratquelle für die Milchfettsynthese dient, gelang durch die Bestimmung der arteriovenösen Differenz im Eutergewebe und durch radioaktive Markierungsversuche (WEST et al., 1972; GLASCOCK & WELCH, 1974; PALMQUIST & MATTOS, 1978). In diesem Zusammenhang ist einerseits der Anstieg der VLDL-Fraktion auf das Drei- bis Vierfache während des Trockenstehens (RAPHAEL et al., 1973) und andererseits die Schwankungen dieser Fraktion in Zusammenhang mit dem Melken zu sehen (GLEOCKLER et al., 1980). GLASCOCK und WELCH (1974) gehen davon aus, daß etwa 45 % der Fettsäuren der Milch von der VLDL-Fraktion stammen.

2.3.7 Auftrennung der Serumlipoproteine

Zur Darstellung der einzelnen Lipoproteinfraktionen werden verschiedene Methoden verwendet, wie die Ultrazentrifugation (HAVEL et al., 1955), die Elektrophorese (NOBLE, 1968), die Gelfiltrationschromatographie (OKAZAKI et al., 1980) und das Ausfällen mit Dextransulfat (BURSTEIN & SCHOLNICK, 1973).

Bei der präparativen Ultrazentrifugation werden die einzelnen Lipoproteinfraktionen durch schrittweise Erhöhung der Dichte zur Flotation gebracht.

Die Auftrennung durch Elektrophorese beruht auf der unterschiedlichen elektrischen Ladung des Proteinanteils der Lipoproteinfraktionen, die das Wanderverhalten im elektrischen Feld bestimmt.

Bei der Ausfällung mit Dextransulfat kommt es unter Anwesenheit von zweiwertigen Kationen, wie z.B. Ca^{++} zu einer selektiven und reversiblen Ausfällung der VLDL/LDL-Fraktion. Es wird angenommen, daß diese Ausfällungsreaktion vom Protein:Lipid-Verhältnis und nicht vom Lipidanteil abhängig ist. Die Ausfällung beruht auf einer elektrostatischen Anziehung zwischen den positiven Gruppen des Proteinanteiles und den negativen Gruppen des Poly-anions, dem Dextransulfat (BURSTEIN & SCHOLNICK, 1973).

2.4 Follikelflüssigkeit

Die Follikelflüssigkeit stellt gleichsam das Nährmedium der Oozyte und der Granulosazellen dar. Sie entsteht zum einen durch einen Transfer von Blutbestandteilen aus dem Blut in die Follikelflüssigkeit und zum anderen durch Stoffwechselfvorgänge in den Granulosazellen der Follikelwand. Veränderungen in der Zusammensetzung der Follikelflüssigkeit spiegeln folglich physiologische und pathologische Änderungen in der Serumkonzentration wider oder sind Ausdruck einer veränderten Stoffwechsellaage der Granulosazellen.

2.4.1 Elektrolyte

Für die Elektrolyte Na, K und Cl besteht in der Konzentration kein wesentlicher Unterschied zwischen Follikelflüssigkeit und Serum (PASCU et al., 1969; SHALGI et al., 1972). Das spezifische Gewicht der Follikelflüssigkeit beträgt wie das des Serums 1,021 g/ml (CARAVAGLIOS & CILOTTI, 1957).

2.4.2 Proteine

Beim Rind beträgt der Proteingehalt der Follikelflüssigkeit 80 % der Serumkonzentration (CARAVAGLIOS & CILOTTI, 1957). Bei den einzelnen Proteinen in der Follikelflüssigkeit finden sich hinsichtlich der relativen Serumkonzentration deutliche Unterschiede. So ist die Konzentration in der Follikelflüssigkeit bezogen auf die Konzentration im Serum umgekehrt proportional zum Molekulargewicht der Proteine. Kleine Moleküle wie das Albumin mit 69 000

daltons finden sich zu fast 120 % in der Follikelflüssigkeit, HDL mit 376 000 daltons zu 59 % (SAVION et al., 1982) und VLDL und LDL mit über 1 000 000 daltons fehlen vollständig (ANDERSEN et al., 1976). Daraus schließt man, daß es sich bei der Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke um ein Molekularsieb handelt, das Substanzen von mehr als 850 000 daltons vom Transfer ausschließt (SHALGI et al., 1973). Die Konzentration der Proteine in der Follikelflüssigkeit ist unabhängig von der Größe der Follikel (DESJARDINS et al., 1966; ANDERSEN et al., 1976). Zwischen der Konzentration der einzelnen Proteine im Serum und in der Follikelflüssigkeit besteht eine sehr hohe positive Korrelation von $r = 0,98$ (DESJARDINS et al., 1966).

2.4.3 Vitamine

Es gibt nur wenige Untersuchungen über den Vitamingehalt der Follikelflüssigkeit. Vitamin B₁, B₂ und B₆ konnten in der Follikelflüssigkeit des Menschen nicht nachgewiesen werden (CERLETTI & ZICHELLA, 1961). Die Konzentration von Vitamin C in der Follikelflüssigkeit des Rindes liegt höher als im Serum. Ein im Östrus stattfindender Anstieg von Vitamin C im Serum spiegelt sich in der Follikelflüssigkeit wider (PASCU et al., 1970). Die Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit beträgt 63 % der Serumkonzentration, die des β -Carotins 39 % (CHEW et al., 1984). Eine Abhängigkeit vom ovariellen Zyklus, von der Follikelgröße oder der Follikelqualität wurde bei Vitamin A und bei β -Carotin nicht untersucht.

2.4.4 Hormone

Die endokrine Zusammensetzung der Follikelflüssigkeit ist von beträchtlicher Bedeutung für das Wachstum des Follikels und die Inkretionsleistung der Granulosazellen (McNATTY & SAWERS, 1975). Ausdruck dieser Syntheseleistung ist die hohe Steroidkonzentration in der Follikelflüssigkeit, die bis zu 24 000 mal höher sein kann als im Serum (IRELAND et al., 1979). Im Gegensatz zu den aus dem Blut stammenden Bestandteilen der Follikelflüssigkeit zeigt die Konzentration der Hormone eine deutliche Abhängigkeit von der Follikelgröße. Damit kommt es in der Follikelflüssigkeit zu einem Wechsel von einer überwiegend androgenen zu einer überwiegend östrogenen Steroidkonzentration. Für diesen Anstieg von 17 β -Östradiol bei gleichzeitigem Abfall von Testosteron wird eine Zunahme der Granulosazellen und/oder der Aktivität der Aromatase angenommen. Die FSH- und Progesteron-Konzentration in der Follikelflüssigkeit bleibt von solchen Änderungen unbeeinflusst (HENDERSON et al., 1982). IRELAND und ROCHE (1983) fanden unter mehreren größeren Follikeln eines Ovarienpaares jeweils mindestens einen Follikel mit bedeutend höheren 17 β -Östradiol-Konzentrationen. Sie gehen dabei davon aus, daß der Follikel mit der hohen 17 β -Östradiol-Konzentration der Follikel ist, der zur Ovulation kommt. KRUIP und DIELEMAN (1982) bestimmten die 17 β -Östradiol-Konzentration in der Follikelflüssigkeit in Abhängigkeit von der Mikromorphologie der Follikel. Es zeigte sich, daß zwischen der Konzentration von 17 β -Östradiol in der Follikelflüssigkeit und der Follikelqualität eine deutliche Korrelation bestand. In den nicht atretischen Follikeln war die Konzentration um ein Vielfaches höher als in atretischen Follikeln.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3 MATERIAL und METHODEN

3.1 Tiere

Die Blut- und Milchproben für die Versuche I und II stammen von Kühen und Bullen folgender Betriebe:

- Lehr- und Versuchsgut der Tierärztlichen Fakultät der Universität München in Oberschleißheim,
- Bayerische Landesanstalt für Tierzucht in Grub,
- Nachkommenschaftsprüfstation der Versuchsgüterverwaltung Achselschwang,
- Mutterkuhhaltungsversuch der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Acheleschwaig, einem Nebenbetrieb des staatlichen Versuchsgutes Schwaiganger.

Die Zuordnung der einzelnen Versuchsgruppen und die Daten für die einzelnen Betriebe bezüglich Rasse, Geschlecht, Fütterung, Haltungsform und Zeitpunkt der Probennahme für Versuch I sind der Tabelle 2 zu entnehmen. Die Proben für die Versuche III und IV stammen von Tieren, die im Herbst 1984 und in Frühjahr und Sommer 1985 am Schlachthof in München geschlachtet wurden.

3.2 Probennahme und Probenkonservierung

Im Versuch II wurden bei 12 schwarzbunten Kühen des Lehr- und Versuchsgutes Oberschleißheim um den Geburtszeitpunkt 5 Blutproben gewonnen. Je eine Blutprobe wurde zwei Wochen bzw. eine Woche vor dem Geburtstermin (ante partum), eine Probe möglichst kurz nach der Geburt und je eine Probe

Tab. 2: Daten zu den Gruppen aus Versuch I

Gruppe	n	Betrieb	Rasse	Geschlecht	Fütterung	Haltungsform	Zeitpunkt der Probennahme
AA	12	Grub	DFV	♀	Silage/Schlempe Kraftfutter	Anbindestall	Frühjahr 9.4.84
AB	7	WSD	DBV	♂	Mais- u. Grassilage Kraftfutter	Anbindestall	Frühjahr 11./18.4.84
AC	7	WSD	DFV	♂	Mais- u. Grassilage Kraftfutter	Anbindestall	Frühjahr 11./18.4.84
AD	12	OSH	SB	♀	Mais- u. Grassilage Kraftfutter	Anbindestall	Frühjahr 13.4.84
AE	16	Grub	DFV	♀	Weide/Kraftfutter	Weide	Herbst 4.9.84
AF	12	AS	DFV	♀	Weide	Weide	Herbst 3.10.84
AFK	19	AS	DFV	♂, ♀	Muttermilch/Weide	Weide	Herbst 3.10.84

Abkürzungen: DFV, Deutsches Fleckvieh; SB, Schwarzbunte; DBV, Deutsches Braunvieh
OSH, Oberschleißheim; WSD, Westerschondorf; AS, Achelteschwaig

etwa eine Woche bzw. sechs Wochen nach der Geburt (post partum) genommen. Bei einer Kuh war es möglich, anhand von 20 Proben den Zeitraum vom Trockenstellen (76 Tage ante partum) bis 44 Tage post partum zu erfassen. Vor dem Trockenstellen und ab der Geburt wurden ebenfalls Milch- bzw. Kolostrumproben gewonnen. Die Blutentnahme fand kurz vor oder nach dem Melken statt. In jedem Fall lagen zwischen Blut- und Milchentnahme maximal eine Stunde, mindestens jedoch 15 Minuten. Bei den Kühen und Kälbern wurde das Blut durch Punktion der Vena jugularis gewonnen. Das Blut der Bullen von Versuch I und der Kühe von Versuch III wurde während des Schlachtvorganges gewonnen. Nach vollständiger Gerinnung bei Raumtemperatur (3 - 4 Stunden) wurden die Blutproben bei 1200 xg 20 Minuten lang zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Zur Verringerung enzymatischer Abbauvorgänge wurden 0,02 % EDTA zugegeben (GLEOCKLER et al., 1980).

Die Milchproben wurden im Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim dem Schauglas des "true-testers" entnommen. Dadurch erhielt man ein repräsentatives Durchschnittsgemelk. In Grub wurde die Milch in einen Eimer gemolken und aus dem Gesamtgemelk die Probe gezogen.

Die Ovarien für die Versuche III und IV wurden den Tieren während des Schlachtvorganges, etwa 10 Minuten nach der Tötung, entnommen. Zur Gewinnung der Follikelflüssigkeit in Versuch III wurden die Follikel entsprechend ihrem äußeren Durchmesser in drei Kategorien eingeteilt, und zwar in kleine Follikel mit einem Durchmesser von 2-5 mm, in mittlere Follikel mit >5-10 mm Durchmesser und in große Follikel mit einem Durchmesser von mehr als 10 mm. Follikel mit einem Durchmesser von mehr als 25 mm wurden als Zysten definiert. Die Follikelflüssigkeit wurde mit einer

Spritze aspiriert und entsprechend der Follikelgröße gepoolt. Bei zystös veränderten Ovarien wurde die Zystenflüssigkeit eines Ovarienpaares gepoolt. Die Einteilung des ovariellen Zyklusstandes erfolgte anhand der Morphologie des Corpus luteum nach den Kriterien von IRELAND et al. (1980).

Abb. 3: Bestimmung des ovariellen Zyklusstandes anhand der Morphologie des Corpus luteum (IRELAND et al., 1980)

Aussehen des Corpus luteum		Tag des Zyklus	Zyklusstadium
Aussen	Innen		
Oberfläche rot, frisch ovuliert	rot, gelegentlich mit Blut gefüllt, lockere Struktur	1-4	I
Rißstelle überwachsen Apex: rot oder braun Peripherie vaskularisiert	Apex: rot oder braun Rest: orange	5-10	II
gelb-braun bis orange Vaskularisation wie bei II späte Stadien auch Apex	orange	11-17	III
hellgelb bis weiß Vaskularisation fehlt	orange bis gelb	18-20	IV

Im Versuch IV wurden die Follikel jeweils eines Ovarienpaares, die größer als 5 mm waren, einzeln mit feinen Uhrmacherpinzetten unter einem Stereomikroskop präpariert. Ihr Durchmesser wurde mit einer Schublehre bestimmt. Die Einteilung in Gruppen verschiedener Qualität erfolgte nach den folgenden Kriterien von KRUIP und DIELEMAN (1982):

-nicht atretisch

Einheitliches, klares Aussehen mit reichlicher und sehr feiner Vaskularisation sowie einer regelmäßigen Granulosazellschicht. Freischwimmende Teilchen in der Follikelflüssigkeit fehlen.

-leicht atretisch

Zunehmender Verlust des durchscheinenden Aussehens, z.T. sehr kleine freischwimmende Teilchen.

-atretisch

Matt-graues Aussehen, Blutgefäße mit geronnenem Blut unregelmäßig gefüllt oder leer. Stellenweise ist die Granulosazellschicht abgelöst und zahlreiche Teilchen schwimmen in der Follikelflüssigkeit.

-stark atretisch

Dunkles, häufig geflecktes Aussehen mit sehr dunklem Kumulus.

Die Follikelflüssigkeit der klassifizierten Follikel wurde einzeln aspiriert. Der Transport und die Präparation der Ovarien bzw. der Follikel erfolgte in BSS (Balanced Salt Solution), bestehend aus 8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,0 g NaHCO₃, 2,0 g Glukose und 10 ml Phenolrotlösung (0,1 %ig) pro Liter Aqua dest. Alle Proben wurden bei -20°C aufbewahrt.

3.3 β -Carotin- und Vitamin-A-Bestimmung im Serum und in der Follikelflüssigkeit

Die Bestimmung von β -Carotin und Vitamin A im Serum und in der Follikelflüssigkeit erfolgt nach einer Kombination der Methode von TIEWS und ZENTZ (1967) mit Teilen neuerer Methoden der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), wie sie bei der Firma BASF, Ludwigshafen, Anwendung finden (HOPPE, persönliche Mitteilung). Die Verseifung von jeweils 200 μ l Serum bzw. Follikelflüssigkeit erfolgte mit der gleichen Menge 1N äthanolischer KOH unter Stickstoff im Wasserbad bei 60°C für 20 Minuten. Abweichend davon wurden in Versuch IV wegen des z.T. geringen Probenmaterials kleinere Mengen (mindestens jedoch 50 μ l) zur Bestimmung verwendet. Nach zweimaliger Extraktion mit je 1 ml Petroläther (30-50°C) und Einengung des Extraktes bis zur Trocknung mit vorgereinigtem Stickstoff wurde der Rest in 200 μ l eines Cyclohexan-Essigsäureäthylestergemisches (80:20) aufgenommen.

Die Trennung und Bestimmung des Probenmaterials erfolgte durch Adsorptionschromatographie in einem einfachen isokratischen HPLC-System bestehend aus Pumpe, Injektionsventil, Trennsäule, Detektor und Schreiber. Die verwendeten Geräte stammen von der Firma Waters Associates Inc., Massachusetts, USA; als Pumpe das Modell 6000 A, als Trennsäule eine 5 μ Porasil Radial Pak B-Säule (RCM 100) und als UV/VIS Detektor das Modell 440. Das Injektionsventil (Modell 7120) stammt von der Firma Rheodyne Inc., Berkeley, USA. Die mobile Phase, bestehend aus einem Gemisch aus Cyclohexan und Essigsäureäthylester im Verhältnis 80:20, wurde vorher gefiltert und mit Ultraschall entgast. Die Flußrate betrug 3 ml/min. Die Messung der Konzentrationen fand bei einer Wellenlänge von 436 nm für

β -Carotin und 313 nm für Vitamin A statt. Die Identifikation der Peaks erfolgte anhand der Retentionszeit, die Konzentration von β -Carotin und Vitamin A wurde über die Höhe der Peaks im Verhältnis zum jeweiligen Standard bestimmt. Aufgezeichnet wurde das Chromatogramm durch einen Zwei-Kanalschreiber (PM 8288 Philips, Holland). Als Standard verwendeten wir β -Carotin (Sigma, Taufkirchen) und all-trans Retinol (Serva, Heidelberg). Alle verwendeten Chemikalien hatten p.a. Qualität (Merk, Darmstadt, wenn nicht anders angegeben).

3.4 β -Carotin- und Vitamin-A-Bestimmung in der Milch

Die Bestimmung von β -Carotin und Vitamin A in der Milch erfolgte in ihrem ersten Teil nach einer Kombination aus dem Arbeitspapier Nr. 2120/ VI/72 der EG-Analysenkommission (1972) und der Methode nach TIEWS und ZENTZ (1967). Die Milchproben (200 μ l) wurden mit der doppelten Menge 96 %igen Äthanolis und der halben Menge 9 N KOH versetzt, mit vorgereinigtem Stickstoff begast, bei 70-80°C im Wasserbad 30 Minuten verseift und anschließend wie die Serum- und Follikelflüssigkeitsproben weiterbehandelt.

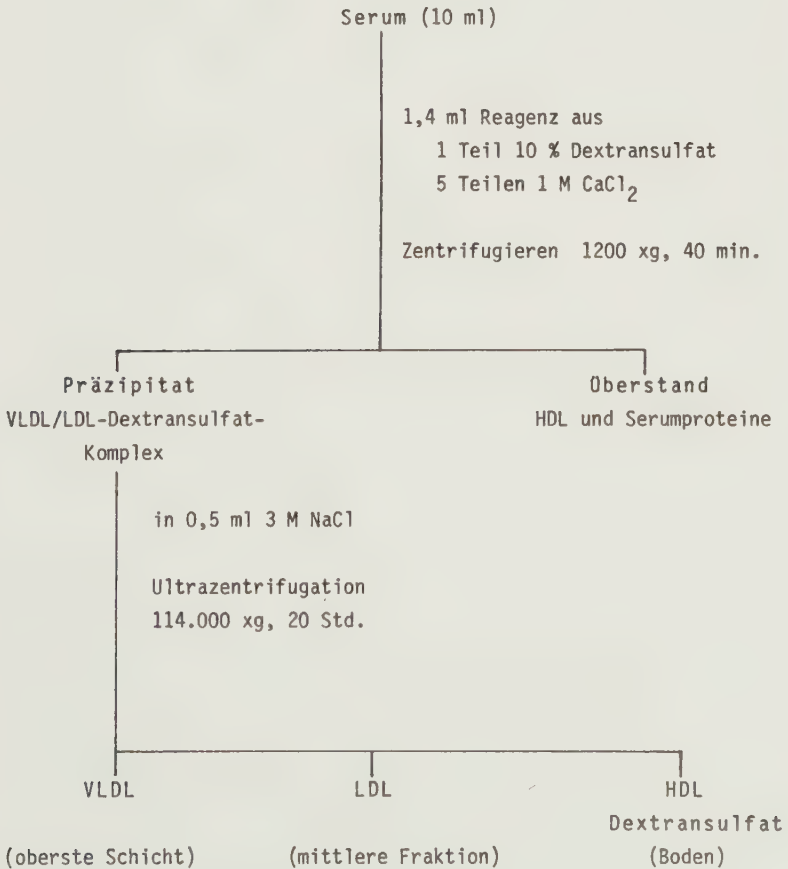
Sämtliche β -Carotin- und Vitamin-A-Bestimmungen mit Ausnahme von Versuch IV wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt. Aus beiden wurde der Mittelwert berechnet.

3.5 Ausfällung der VLDL/LDL-Fraktion des Serums

Die Auftrennung der einzelnen Lipoproteinfraktionen erfolgte durch eine Kombination der Ausfällung mit Dextransulfat und anschließender Ultrazentrifugation. Bei den Gruppen AA bis AE von Versuch I erfolgte eine Auftrennung in die VLDL/LDL-Fraktion und HDL-Fraktion durch Ausfällung. Bei der Gruppe AF von Versuch I und bei allen Proben von Versuch II wurde die VLDL-Fraktion zusätzlich durch Ultrazentrifugation abgetrennt. Bei der Gruppe AFP wurden vor der Trennung der VLDL- und LDL-Fraktion die Chylomikronen abzentrifugiert.

Zu jeweils 10 ml der Serumprobe wurden 1,4 ml Reagenz gegeben; hierbei kam es zu einer sofortigen Trübung. Das Dextransulfat-Reagenz bestand aus einer Mischung von einem Teil 10 % Dextransulfat mit einem Molekulargewicht von etwa 5 000 (Sigma, Taufkirchen) und fünf Teilen einer 1 M CaCl_2 -Lösung (BURSTEIN & SAMAILLE, 1957). Die optimale Menge des Reagenz zur Ausfällung der Lipoproteine mit einer Dichte von weniger als 1,063 g/ml wurde durch Titration des Serums mit dem Reagenz bis zur maximalen Trübung bei 700 nm im Spektralphotometer bestimmt (STEAD et al., 1978). Die Proben wurden verschlossen, geschüttelt und bei Raumtemperatur eine Stunde im Dunklen stehen gelassen, bevor sie bei 1200 xg für 40 Minuten zentrifugiert wurden. Der Überstand wurde abpipettiert und das Präzipitat unter heftigem Schütteln in 2 ml 1 M NaCl gelöst.

Abb. 4: Auftrennung der Lipoproteinfraktionen durch Ausfällung und Ultrazentrifugation



3.6 Auftrennung der VLDL/LDL-Fraktion durch Ultrazentrifugation

Um eine ausreichende Konzentrierung und Dichte zu erzielen, wurde, wenn anschließend die VLDL/LDL-Fraktion durch Ultrazentrifugation aufgetrennt werden sollte, das Präzipitat nicht in 2 ml 1 M NaCl-Lösung, sondern in 0,5 ml 3 M NaCl-Lösung gelöst. Zur Auftrennung in die VLDL- und LDL-Fraktion wurde jeweils ein 5 ml Ultrazentrifugenröhrchen (Ultraclear Beckmann Instruments, Palo Alto, USA) in einer selbstkonstruierten Einspannvorrichtung fixiert, von oben mit 3 ml einer NaCl-Lösung mit einer Dichte von 1,006 g/ml nach HATCH und LEES (1968) beladen und mit den 2 ml VLDL/LDL-Probe aus 40 ml Serum unterschichtet. Für die Füllung des Ultrazentrifugenröhrchens wurde eine 5 ml Spritze und eine horizontal abgeschliffene Spinalkanüle verwendet. Der Ultrazentrifugationslauf fand in einer Spinco L50 Ultrazentrifuge mit einem "swing-out" Rotor SW 50/1 (beide Beckmann Instruments) bei 114 000 xg, einer Kammertemperatur von 15-16°C und einer Laufzeit von 20 Stunden statt (modifiziert nach HATCH & LEES, 1968). Auf eine Abzentrifugation der Chylomikronen wie beim Humanserum wurde wegen des vermutlichen Nichtvorhandenseins von Chylomikronen beim Rind (s. 2.3.1) verzichtet. Bei der Untersuchung des Serums der Kälber der Mutterkuhherde wurde dieser Vorlauf jedoch durchgeführt. Aufgrund der physiologischen Besonderheit der Verdauung der Kälber im Gegensatz zu der erwachsener Wiederkäuer können Chylomikronen nicht ausgeschlossen werden. Für den Vorlauf galten folgende Bedingungen: 26 000 xg, 30 Minuten, Kammer-temperatur 15-16°C. Anschließend wurden die flotierten Chylomikronen abpipettiert, das Zentrifugenröhrchen mit der NaCl-Lösung wieder aufgefüllt und unter den oben beschriebenen Bedingungen weiterbehandelt.

Nach der Zentrifugation stellte sich eine Vierschichtung ein. Oben flotierte die VLDL-Fraktion, gefolgt von einer wasserklaren Schicht, in der keine nennenswerten Mengen β -Carotin nachgewiesen werden konnten. In der mittleren Schicht fanden sich die LDL-Fraktion sowie, durch eine schmale wasserklare Schicht getrennt am Boden des Röhrchens Spuren von HDL und das Dextransulfat. Die VLDL-Fraktion wurde zur Bestimmung abpipettiert.

3.7 Ermittlung des β -Carotin-Gehaltes in den einzelnen Fraktionen

Die Serumkonzentration konnte direkt über die Höhe des Peaks bestimmt werden. Beim Präzipitat und beim Überstand dagegen mußten eingetretene Konzentrierungen bzw. Verdünnungen bei der Berechnung berücksichtigt werden. Über die Bestimmung des Volumens bei 6 Proben (10 ml Serum plus 1,4 ml Reagenz) wurde ein Mittelwert von 11,3 ml für den Überstand und 2,03 ml für das in 2 ml NaCl aufgenommene Präzipitat ermittelt. Diese Werte wurden bei allen Berechnungen zugrunde gelegt. Der β -Carotin-Gehalt im Präzipitat wurde daher mit dem Faktor 0,203 multipliziert. Beim Überstand mußte die Verdünnung durch das zugegebene Reagenz mitberücksichtigt werden. Der aus der Peakhöhe errechnete β -Carotin-Gehalt wurde deshalb mit dem Faktor 1,13 multipliziert. Da bei den Saugkälbern die Menge des Präzipitates deutlich größer war, wurde der auf gleiche Weise bestimmte Faktor 0,21 bzw. 1,1 verwendet. Bei der abzentrifugierten VLDL-Fraktion wurde der β -Carotin-Gehalt über die abpipettierte Menge und die Ausgangsmenge des Serums bestimmt. Der Gehalt in der LDL-Fraktion wurde dann über die Differenz zwischen dem Gehalt in der VLDL/LDL-Fraktion abzüglich des Gehaltes in der VLDL-Fraktion berechnet.

3.8 Auftrennung der Lipoproteinfraktionen in der Follikelflüssigkeit

Zu Vergleichszwecken erfolgte die Auftrennung der Lipoproteine der Follikelflüssigkeit in die einzelnen Fraktionen sowohl durch Flotation in der Ultrazentrifuge als auch durch Ausfällung mit Dextransulfat.

Bei der Ultrazentrifugation erfolgte die Einstellung der Dichte durch die Zugabe von kristallinem KBr. In Abhängigkeit von der Dichte der Follikelflüssigkeit, mit einem 1 ml Überlaufmeßkölbchen bestimmt, wurde nach der Formel von RADDING und STEINBERG (1960) die notwendige Menge KBr berechnet. Die VLDL/LDL-Fraktion wurde bei einer Dichte von 1,063 g/ml flotiert, die HDL-Fraktion bei 1,210 g/ml.

Die Ausfällung der VLDL/LDL-Fraktion wurde wie beim Serum (s. 3.5) durchgeführt. Zur Ausfällung der gesamten Lipoproteine wurde anstelle des Dextransulfates mit einem Molekulargewicht von 5 000 ein hochmolekulares Dextransulfat (500 000) verwendet (Serva, Heidelberg). Für 5 ml Follikelflüssigkeit wurden 2 ml Reagenz benötigt. Alle weiteren Schritte entsprachen der Vorgangsweise beim Serum.

3.9 Statistik

In den Tabellen sind die Ergebnisse jeweils als Mittelwert mit der dazugehörigen Standardabweichung dargestellt. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wurden in Versuch I und II mit Hilfe des MANN-WHITNEY U-Tests und in Versuch III mit dem STUDENT T-Tests auf ihre Signifikanz geprüft. Dabei wird $P < 0,05$ als signifikant bezeichnet. Der Korrelationskoeffizient zwischen Merkmalen einer Gruppe wurde mittels der PEARSON'schen Korrelation berechnet (SACHS, 1974).

4 ERGEBNISSE

4.1 Methodik

Mit einer Wiederfindungsrate von 93 % für β -Carotin ist die Lipoproteinauftrennung und β -Carotin-Bestimmung trotz einer Vielzahl von Analysenschritten und trotz der Empfindlichkeit von β -Carotin gegenüber Oxydation sehr schonend.

Bei sechsmaliger Wiederholung der Ausfällungsreaktion mit anschließender Verseifung und β -Carotin-Bestimmung bei zwei Proben ergaben sich folgende durchschnittliche Abweichungen vom Mittelwert:

Serum	1,2 %
VLDL/LDL	1,0 %
HDL	1,5 %

Hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der β -Carotin- und Vitamin-A-Bestimmung im Serum und in der Follikelflüssigkeit hatte die Probenmenge keinen nennenswerten Einfluß. Die durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert für β -Carotin betrug bei 200 μ l und 100 μ l Probenmaterial weniger als 2 %; bei 50 μ l betrug sie 3 %. Mit 4 % bei 200 μ l und 100 μ l bzw. 8 % bei 50 μ l Probenmaterial lag die durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert für Vitamin A etwas höher.

Die Angaben über die Dauer des Stehenlassens der Proben weisen in der Literatur große Unterschiede auf. Wir prüften deshalb in einem Vorversuch anhand der Bestimmung des β -Carotins den Ausfällungsverlauf der VLDL/LDL-Fraktion. Jeweils nach 10, 40 und 120 Minuten sowie nach 5 Stunden wurde das β -Carotin im Präzipitat und Überstand

bestimmt. Bereits nach 10 Minuten war die Ausfällung vollständig abgeschlossen. Aus arbeitstechnischen Gründen ließen wir die Probe eine Stunde ruhen. Diese Ergebnisse beim Rind stimmen weitgehend mit Ergebnissen beim Hund überein, wo die Vollständigkeit der Ausfällung anhand des Cholesterins bestimmt wurde (SAKAGAMI & ZILVERSMIT, 1961).

Mit Hilfe der Auftrennung durch die Agarosegel-Elektrophorese (NOBLE, 1968) prüften wir die Vollständigkeit der Auftrennung durch Präzipitation. Eine gegenseitige Kontamination der beiden Lipoproteinfraktionen konnte nicht nachgewiesen werden.

4.2 Versuch I

4.2.1 β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum und in der Milch

Die Ergebnisse von Versuch I sind in den Tabellen 3 und 4 dargestellt. Die β -Carotin-Konzentration im Blutserum zeigte deutliche fütterungsbedingte und damit jahreszeitliche Schwankungen: hohe β -Carotin-Konzentrationen während der Weidehaltung im Sommer und niedrige Konzentrationen durch die Aufnahme carotinarmen Futters im Winter. Am deutlichsten war dieser Unterschied bei den Gruppen AA und AE zu sehen ($P < 0,001$). Es handelte sich hier um Tiere des gleichen Bestandes während der Winterfütterung (AA) und während der Weidehaltung im Sommer (AE). Hohe β -Carotin-Konzentrationen zeigten sich auch bei den Tieren der Gruppe AF, die ebenfalls während des ganzen Sommers auf der Weide standen. Die niedrigsten β -Carotin-Konzentrationen dagegen hatten die Bullen mit etwa 25 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$.

Bei den Kälbern der Mutterkuhherde (AFK) war die β -Carotin-Konzentration im Serum deutlich niedriger als bei den Muttertieren (AF). Auffällig war eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Alter der Kälber und der β -Carotin-Konzentration im Serum ($r = 0,862$; $P < 0,001$). Die Werte lagen zwischen 45 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ beim jüngsten (16 Tage) und 702 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ beim ältesten Kalb (85 Tage).

Im Gegensatz zum β -Carotin ist die Vitamin-A-Konzentration im Blutserum keinen jahreszeitlichen und fütterungsbedingten Schwankungen unterworfen. Sie liegt bei den erwachsenen Tieren zwischen 27 und 41 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Die festge-

Tab. 3: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $\bar{x} \pm s$) im Serum, in der Milch und in den Serumlipoproteinfraktionen

Gruppe	Rasse/ Geschlecht	β -CAROTIN			VITAMIN A	
		Serum	VLDL/LDL	HDL	Serum	Milch
AA n=12	DFV ♀	111±50	12±6 (11,7±4,5)	91±40 (82,1±3,5)	36±8	27±7
AB n=7	DBV ♂	26±6	3±0,5 (10,5±1,6)	21±5 (79,8±7,3)	27±6	-
AC n=7	DFV ♂	28±7	3±1 (11,0±6,9)	21±5 (76,6±5,4)	32±6	-
AD n=12	SB ♀	197±49	20±10 (9,7±3,1)	162±38 (82,9±3,9)	36±4	39±6
AE n=16	DFV ♀	718±278	88±33 (11,1±2,4)	600±240 (83,4±3,9)	41±8	36±14

Abkürzungen: DFV, Deutsches Fleckvieh; SB, Schwarzbunte; DBV, Deutsches Braunvieh
Werte in Klammern = % der Serumkonzentration ($\bar{x} \pm s$)

stellten Unterschiede sind nicht signifikant. Auch Rasse und Geschlecht hatten keinen Einfluß auf die Vitamin-A-Konzentration. Eine Ausnahme bildeten hierbei die Kälber der Mutterkuhherde (AFK), deren Vitamin-A-Konzentration mit 20 µg/100 ml im Serum signifikant unter der ihrer Mütter lag ($P < 0,001$). Auch für die Vitamin-A-Konzentration im Serum bestand eine positive, aber nicht signifikante Korrelation mit dem Alter der Tiere ($P < 0,1$).

Tab. 4: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum und in den Lipoproteinfraktionen (µg/100 ml, $\bar{x} \pm s$) bei Mutterkühen (AF) und ihren Saugkälbern (AFK)

	B-CAROTIN				VITAMIN A
	Serum	VLDL	LDL	HDL	Serum
AF	1025 $\pm$ 365	2 $\pm$ 1	117 $\pm$ 42	850 $\pm$ 308	37 $\pm$ 12
n=12		(0,3 $\pm$ 0,1)	(12,6 $\pm$ 3,4)	(83,1 $\pm$ 5,8)	
AFK	265 $\pm$ 187	75 $\pm$ 53		161 $\pm$ 112	20 $\pm$ 4
n=15		(27,0 $\pm$ 6,1)		(60,1 $\pm$ 11,7)	

Werte in Klammern = % der Serumkonzentration ($\bar{x} \pm s$)

Wie das Blut, so spiegelte auch die β -Carotin-Konzentration in der Milch die Versorgungslage der Tiere mit β -Carotin wider. Im Sommer fand sich bedeutend mehr β -Carotin in der Milch als im Winter (Tab. 3).

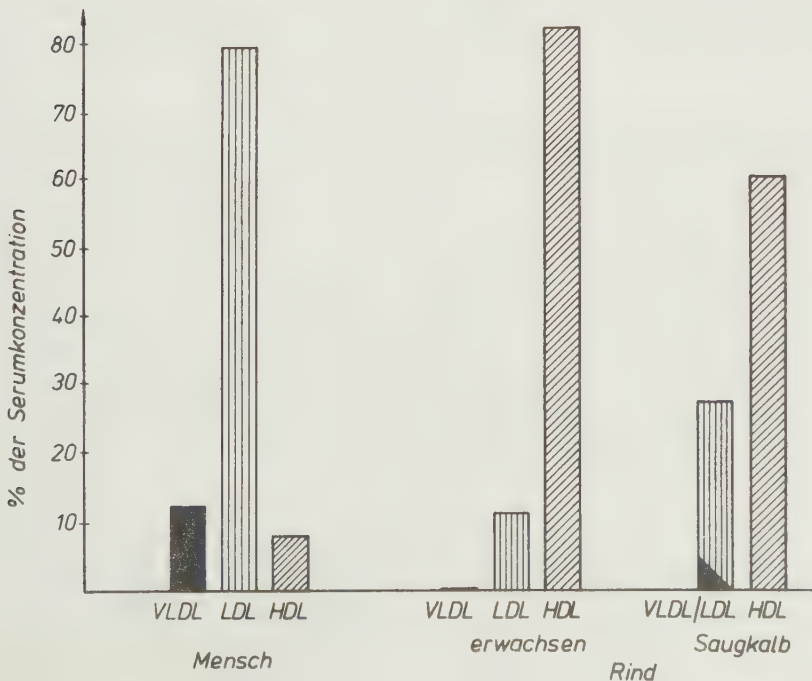
4.2.2 Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen

Die Ergebnisse aus Versuch I (Tab. 3) zeigen, daß etwa 11 % des β -Carotins im Serum an die VLDL/LDL-Fraktion und 82 % an die HDL-Fraktion gebunden waren. Diese Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen war unabhängig von Geschlecht, Rasse, Fütterung und β -Carotin-Konzentration im Serum. Auch die Ausscheidung über die Milch hatte keinen Einfluß auf die Verteilung. Bei der Gruppe AF wurde zusätzlich die VLDL-Fraktion durch Ultrazentrifugation abgetrennt. Die β -Carotin-Konzentration bezogen auf die gesamte Serumkonzentration betrug hier 0,3 %. Chylomikronen konnten bei laktierenden Kühen in einem Vorversuch nicht nachgewiesen werden.

Abweichend von diesen einheitlichen Ergebnissen kommt es bei den Saugkälbern (AFK) der Mutterkuhherde zu einer deutlichen Verschiebung der Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen zugunsten der VLDL/LDL-Fraktion. Bei den 15 untersuchten Kälbern lag der Anteil der VLDL/LDL-Fraktion zwischen 16 % und 35 % mit einem Mittelwert von 27 %. Entsprechend niedriger ist der Anteil der HDL-Fraktion mit durchschnittlich 60 %. Das Alter der Kälber hatte keinen Einfluß auf die Verteilung des β -Carotins auf die Lipoproteinfraktionen. Hinsichtlich der Menge des Präzipitates (VLDL/LDL-Fraktion) war bemerkenswert, daß bei den Saugkälbern etwa doppelt soviel ausfiel wie bei den Mutterkühen. Diese Beobachtung wurde nicht quantifiziert, doch wurde sie, wie unter Punkt 3.7 beschrieben, bei der Berechnung der β -Carotin-Konzentration berücksichtigt. Zur Gewinnung von Chylomikronen wurden das Serum der Saugkälber der Mutterkuhherde entsprechend des Alters der Kälber gepoolt und Chylomikronen und die VLDL-Fraktion nacheinander abzentrifugiert. Bei allen Proben

kam es zu einer deutlichen Flotation von Chylomikronen und von VLDL. Dies bestätigte das makroskopische Bild des Kälberserums, das wie bei der postprandialen Lipämie der Monogastrier ein opaleszierendes Aussehen hatte. In den vier Proben, bei denen die Chylomikronen und die VLDL-Fraktion verlustfrei abpipettiert werden konnten, fanden sich 0,4 % des β -Carotins in der Fraktion der Chylomikronen und 0,9 % in der VLDL-Fraktion. Für die VLDL-Fraktion ist dieser Wert deutlich höher als beim Muttertier. Die Ergebnisse für das Rind sind in Abbildung 5 den Ergebnissen für den Menschen (MATHEWS-ROTH & GULBRANDSEN, 1974) vergleichend gegenübergestellt.

Abb. 5: Verteilung von β -Carotin auf die Serumlipoproteinfraktionen bei Mensch und Rind



4.3 Versuch II

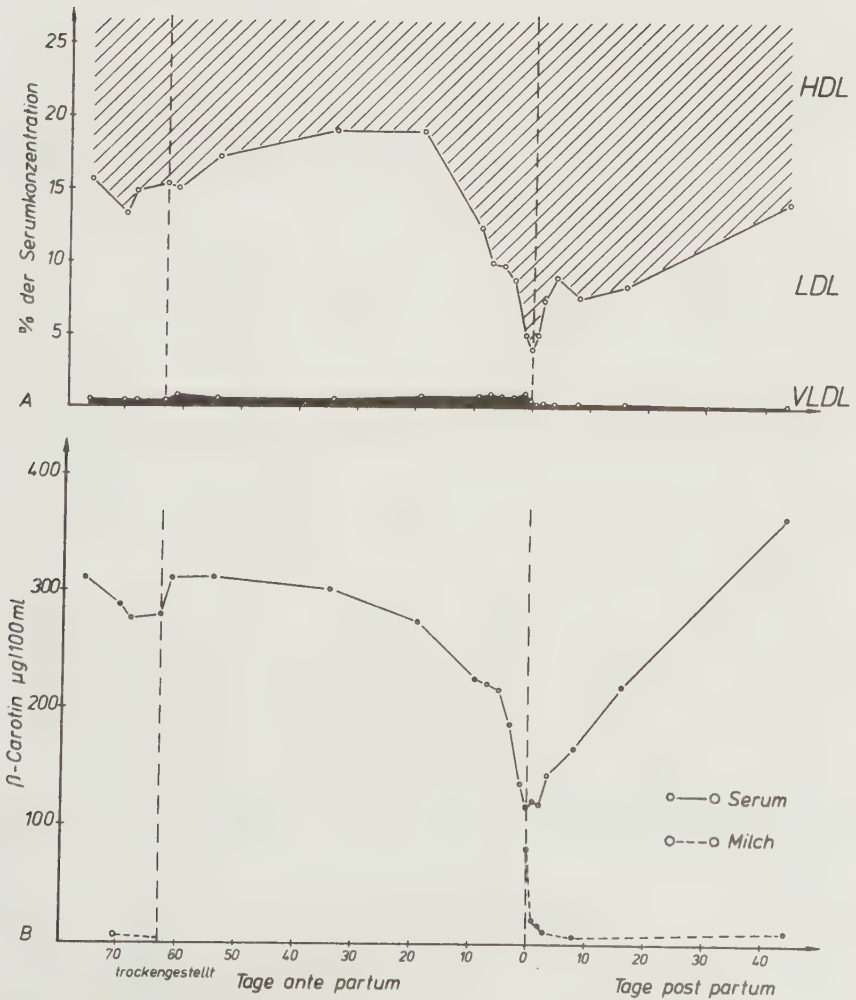
4.3.1 β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum, im Kolostrum und in der Milch

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich kam es beim β -Carotin um die Geburt zu einem signifikanten Abfall von 243 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ etwa zwei Wochen vor der Geburt auf 157 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ kurz nach der Geburt ($P < 0,02$). Anschließend stieg die Konzentration wieder auf 264 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Entsprechendes galt auch für Vitamin A. Hier sank die Serumkonzentration von 31 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ auf 17 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, um dann ebenfalls wieder auf 35 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ anzusteigen ($P < 0,01$). Die Konzentration von β -Carotin und Vitamin A im Erstgemelk lag mit 88 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ für β -Carotin und 167 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ für Vitamin A um den Faktor 14 bzw. 8 höher als in der Milch etwa 30 bis 40 Tage nach der Geburt ($P < 0,001$).

4.3.2. Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen

An einer Kuh (BT) wurden durch Probennahmen ($n=20$) vom Zeitpunkt vor dem Trockenstellen (76 a.p.) bis nach der Geburt (44 p.p.) die Änderungen in der Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen untersucht (Abb. 6). Während des gesamten Zeitraums konnte β -Carotin in allen drei Lipoproteinfraktionen nachgewiesen werden.

Abb. 6: β -Carotin-Konzentration im Serum und in der Milch (B) und Verteilung auf die Serumlipoproteinfraktionen (A) um die Geburt bei der Kuh BT (849)



Mit dem Trockenstellen kam es parallel zum Anstieg der β -Carotin-Konzentration im Serum zu einer Zunahme des Anteils sowohl der VLDL- als auch der LDL-Fraktion am Transport von β -Carotin. Während die VLDL-Fraktion auf diesem erhöhten Niveau von etwa 1 % blieb und erst mit dem Melken nach der Geburt auf Werte von 0,2 % abfiel, kam es bei der LDL-Fraktion bereits ab dem 19. Tag a.p. zu einer deutlichen, ab dem 5. Tag a.p. zu einer sehr starken Abnahme am β -Carotin-Transport von 18 % über 9 % auf 3 % um den Geburtszeitpunkt. Im Gegensatz zur VLDL-Fraktion kam es dann bei der LDL-Fraktion zu einem langsamen Anstieg nach der Geburt auf 14 % (44. Tag p.p.). Dieser Abfall von β -Carotin in der LDL-Fraktion verlief, wie aus der Abbildung 6 zu sehen ist, praktisch parallel zur β -Carotin-Konzentration im Serum. Hier war etwa ab dem 19. Tag a.p. eine langsame Abnahme, zwischen dem 9. und 5. Tag a.p. eine Stufenbildung und ab dem 5. Tag a.p. ein steiler Abfall zu beobachten. Entsprechend der Abnahme der LDL-Fraktion nimmt der Anteil der HDL-Fraktion am Transport von β -Carotin zu. Zusätzlich konnte beobachtet werden, daß zur Geburt hin die Menge der ausgefällten VLDL/LDL-Fraktion bedeutend weniger wurde, nach der Geburt jedoch wieder zunahm. Diese Beobachtung wurde nicht quantifiziert.

Die Werte für ein Einzeltier konnten durch eine fünf-fache Probennahme bei 12 Tieren statistisch abgesichert werden (Tab. 5). Der prozentuale Anteil der VLDL-Fraktion am Transport von β -Carotin bleibt bis zur Geburt konstant. Dagegen nimmt der prozentuale Anteil der LDL-Fraktion signifikant ab, um zur Geburt sein Minimum zu erreichen und anschließend wieder anzusteigen ($P < 0,001$).

Tab. 5: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $\bar{x} \pm s$) im Serum und in der Milch und Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen um die Geburt

Zeitpunkt Wochen	β -CAROTIN				VITAMIN A	
	Serum	VLDL	LDL	HDL	Milch	Serum Milch
2 a.p.	243 $\pm$ 96	1,7 $\pm$ 1,1 (0,7 $\pm$ 0,3)	37 $\pm$ 19 (14,8 $\pm$ 4,5)	193 $\pm$ 76 (79 $\pm$ 6)	tr.	31 $\pm$ 15 tr.
1 a.p.	209 $\pm$ 73	1,4 $\pm$ 0,8 (0,7 $\pm$ 0,3)	24 $\pm$ 11 (11,5 $\pm$ 2,7)	167 $\pm$ 55 (81 $\pm$ 9)	tr.	26 $\pm$ 4 tr.
Geburt	157 $\pm$ 49	0,2 $\pm$ 0,1 (0,1 $\pm$ 0,1)	8 $\pm$ 5 (5,1 $\pm$ 2,3)	136 $\pm$ 50 (88 $\pm$ 8)	81 $\pm$ 48	17 $\pm$ 5 167 $\pm$ 106
1 p.p.	146 $\pm$ 49	0,2 $\pm$ 0,1 (0,1 $\pm$ 0,1)	11 $\pm$ 4 (7,4 $\pm$ 2,1)	130 $\pm$ 47 (89 $\pm$ 11)	8 $\pm$ 3	21 $\pm$ 8 28 $\pm$ 16
6 p.p.	264 $\pm$ 118	0,5 $\pm$ 0,3 (0,2 $\pm$ 0,1)	34 $\pm$ 16 (12,7 $\pm$ 3,5)	203 $\pm$ 83 (79 $\pm$ 10)	6 $\pm$ 8	35 $\pm$ 18 21 $\pm$ 18

Werte in Klammern = % der Serumkonzentration ($\bar{x} \pm s$)
tr. = trockenstehend

4.4 Versuch III

4.4.1 B-Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum

Auch in diesem Versuch konnten die fütterungsbedingten, jahreszeitlichen Schwankungen der B-Carotin-Konzentration im Serum beobachtet werden. Eine höhere Vitamin-A-Konzentration des Serums im Winter steht im Widerspruch zu den Ergebnissen aus Versuch I und II. Der ovarielle Zyklusstand hatte keinen Einfluß auf die jeweilige B-Carotin- und Vitamin-A-Konzentration des Serums. Da Gleiches auch für die Konzentration dieser beiden Substanzen in der Follikelflüssigkeit galt, wurden alle 75 untersuchten Tiere zu einer Gruppe zusammengefaßt (Tab. 7).

Die Serumkonzentration von B-Carotin und Vitamin A bei Kühen mit pathologisch veränderten Ovarien (n=16) entsprach der durchschnittlichen Konzentration der anderen im Winter bestimmten Tiere (Tab. 6).

Tab. 6: B-Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum und in Follikelzysten ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $\bar{x} \pm s$)

	Serum	Follikelzysten
B-Carotin	284 $\pm$ 172	114 $\pm$ 64
Vitamin A	39 $\pm$ 12	23 $\pm$ 7

4.4.2 β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit

Die Ergebnisse für β -Carotin und Vitamin A in der Follikelflüssigkeit (Tab. 7) zeigen, daß die β -Carotin-Konzentration von der jeweiligen Follikelgröße unabhängig war. Sie betrug etwa 36 % der jeweiligen Serumkonzentration. Anders ist dies bei Vitamin A, hier kam es mit zunehmender Größe der Follikel zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration in der Follikelflüssigkeit ($P < 0,001$) von 18 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ in den kleinen auf 28 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ in den großen Follikeln.

Tab. 7: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentrationen im Serum und in der Follikelflüssigkeit ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $\bar{x} \pm s$)

	Serum	Follikel		
		klein	mittel	groß
	n=75	n=73	n=22	n=55
β -Carotin	663 $\pm$ 617	227 $\pm$ 208 (35 $\pm$ 6)	295 $\pm$ 237 (38 $\pm$ 9)	201 $\pm$ 198 (35 $\pm$ 7)
Vitamin A	36 $\pm$ 10	18 $\pm$ 7 (51 $\pm$ 12)	23 $\pm$ 10*** (69 $\pm$ 17)	28 $\pm$ 8*** (75 $\pm$ 16)

*** $P < 0,001$

Werte in Klammern = % Serumkonzentration ($\bar{x} \pm s$)

Bei einer Gruppe von 13 Kühen, bei denen mehrere größere Follikel (>5 mm) auf einem Ovarienpaar waren, wurden diese Follikel einzeln untersucht (Tab. 8). Es zeigte sich hier, daß jeweils mindestens einer der 2 - 3 größeren Follikel eine hohe Vitamin-A-Konzentration aufwies, die 78 % der Serumkonzentration betrug und der Gesamtgruppe entsprach. Bei den anderen größeren Follikeln lag die Vitamin-A-Konzentration mit 46 % niedriger als bei den gepoolten kleinen Follikeln (2-5 mm) der gleichen Tiere.

Tab. 8: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in kleinen und unterschiedlichen, größeren Follikeln (> 5 mm) ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $\bar{x} \pm s$)

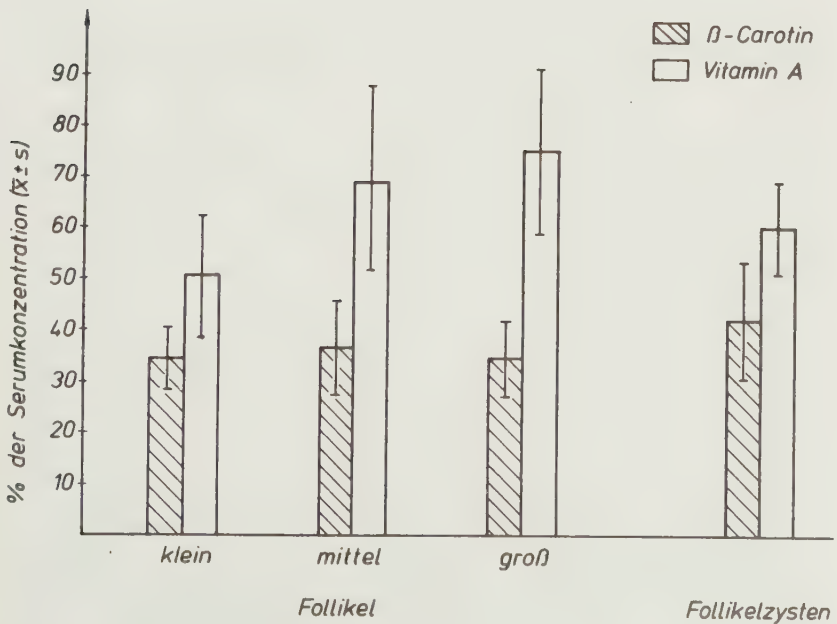
	kleiner als 5 mm		größer als 5 mm	
	n=13		viel Vitamin A	wenig Vitamin A
			n=14	n=14
β-Carotin	107 $\pm$ 77 (36 $\pm$ 5)		105 $\pm$ 79 (36 $\pm$ 5)	127 $\pm$ 87 (39 $\pm$ 7)
Vitamin A	13 $\pm$ 6 (48 $\pm$ 10)		22 $\pm$ 10 (78 $\pm$ 14)	13 $\pm$ 7 (46 $\pm$ 16)

Werte in Klammern = % der Serumkonzentration ($\bar{x} \pm s$)

In der Flüssigkeit zystös veränderter Follikel lag die Vitamin-A-Konzentration mit 59 % deutlich niedriger als in den unveränderten großen Follikeln, die β -Carotin-Konzentration jedoch mit 42 % der Serumkonzentration höher als in der Follikelflüssigkeit ($P < 0,05$).

Die Ergebnisse für normale und pathologisch veränderte Follikel sind in Abbildung 7 zusammenfassend dargestellt.

Abb. 7: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in normalen und pathologisch veränderten Follikeln



4.4.3 β -Carotin- und Vitamin-A-Bindung in der Follikelflüssigkeit

Das Verhalten von β -Carotin in der Follikelflüssigkeit gegenüber Ausfällung mit Dextransulfat und schrittweiser Flotation mit Hilfe der Ultrazentrifugation zeigte, daß β -Carotin in der Follikelflüssigkeit wie im Serum an Lipoproteine gebunden war. Mit beiden Trennungsmethoden konnte jedoch kein VLDL/LDL-gebundenes β -Carotin nachgewiesen werden. Alles β -Carotin war an HDL gebunden. Das Fehlen von VLDL und LDL konnte auch durch die Agarosegel-Elektrophorese gezeigt werden.

Vitamin A in der Follikelflüssigkeit verhielt sich bei Ausfällung und Ultrazentrifugation wie im Serum. Es präzipitierte nicht und war bei einer Dichte von 1,210 g/ml nicht zu flotieren (Tab. 9).

Tab. 9: Verhalten von β -Carotin und Vitamin A bei Ultrazentrifugation (UZ) und Präzipitation (DS) (% der Follikelflüssigkeitskonzentration, $\bar{x} \pm s$)

	VLDL/LDL	LP	LPF
UZ	β -Carotin	n.d.	79,8 $\pm$ 5,4
	Vitamin A	n.d.	72,6 $\pm$ 6,8
DS	β -Carotin	n.d.	90,9 $\pm$ 3,2
	Vitamin A	n.d.	67,0 $\pm$ 2,7

Abkürzungen: LP: Gesamtlipoproteine; LPF: Lipoprotein-freie Fraktion; n.d.: nicht nachweisbar

4.5 Versuch IV

4.5.1 β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in Follikeln unterschiedlicher Qualität

In diesem Versuch wurden 49 Follikel von 14 Tieren präpariert und entsprechend ihrem morphologischen Erscheinungsbild klassifiziert. Von den Follikeln wurden 18 als nicht atretisch, 5 als leicht atretisch, 16 als atretisch und 10 als stark atretisch beurteilt. Ihr Durchmesser lag zwischen 4 mm und 21 mm. Die β -Carotin-Konzentration in der Follikelflüssigkeit war von der Follikelqualität unabhängig (Tab. 10).

Tab. 10: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration in Follikeln unterschiedlicher Qualität ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}, \bar{x} \pm s$)

	nicht atretisch	leicht atretisch	atretisch	stark atretisch
Anzahl	18	5	16	10
Größe (mm)	4-21	7-14	5-17	4-17
β -Carotin	289 $\pm$ 82	360 $\pm$ 139	345 $\pm$ 150	253 $\pm$ 184
Vitamin A	31 $\pm$ 6	26 $\pm$ 9	15 $\pm$ 5	13 $\pm$ 6

Im Gegensatz dazu zeigte die Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit eine deutliche Abhängigkeit von der Follikelqualität. Mit $31 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ lag sie in den nicht atretischen Follikeln deutlich über der in den stark atretischen Follikeln, die mit $13 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ weniger als die Hälfte der Konzentration aufwiesen (Tab. 10). In einem der stark atretischen Follikel konnte kein Vitamin A nachgewiesen werden.

In Tabelle 11 sind die Ergebnisse für Vitamin A zusätzlich nach der Follikelgröße aufgegliedert. Es zeigte sich dabei, daß die Follikelgröße auf die Vitamin-A-Konzentration keinen Einfluß hatte.

Tab. 11: Vitamin-A-Konzentration in Follikeln unterschiedlicher Qualität in Abhängigkeit von der Follikelgröße ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $\bar{x} \pm s$)

Follikel- größe	nicht atretisch	leicht atretisch	stark atretisch	stark atretisch
2-5mm	24 (n=1)	-	8 (n=1)	0 (n=1)
>5-10mm	33 ± 6 (n=7)	20 ± 8 (n=3)	17 ± 5 (n=8)	14 ± 4 (n=8)
> 10mm	30 ± 6 (n=10)	17 ± 0 (n=2)	14 ± 5 (n=7)	20 (n=1)

5 DISKUSSION

5.1 Methodik

Die Methode der selektiven Ausfällung von Serumlipoproteinfractionen in Kombination mit der Ultrazentrifugation ermöglicht es, auch bei geringer Rotorkapazität quantitativ kleine Lipoproteinfractionen wie die VLDL-Fraktion des Rindes präparativ darzustellen. Durch die Ausfällung ist es mit geringem Aufwand möglich, größere Mengen von VLDL und LDL aus dem Serum zu isolieren und damit ausreichend Analysenmaterial zu erhalten. Durch anschließendes Inlösungbringen des Präzipitates in einem geringeren Volumen, als es das Serum hatte, kann eine bis zu zwanzigfache Konzentration erreicht werden. Auf diese Weise können in einem Rotor mit einer Kapazität von 6 x 5 ml sechs Proben aus jeweils 40 ml Serum aufgetrennt werden. Zusätzlich stellt die Methode der selektiven Ausfällung der VLDL/LDL-Fraktion eine wesentliche Vereinfachung gegenüber der reinen Ultrazentrifugation dar und ermöglicht so die Verarbeitung einer größeren Probenzahl. Vergleiche zwischen der Methode der selektiven Ausfällung und der Ultrazentrifugation erbrachten für den Menschen (KRITCHEVSKY et al., 1963), den Hund (SAKAGAMI & ZILVERSMIT, 1961), die Ratte (HILL & DVORNIK, 1969) und das Rind (THIELE & RADAŠ, 1975) keine wesentlich unterschiedlichen Ergebnisse.

In dieser Arbeit wurde erstmals analog zum Serum die Methode der Ausfällung von Lipoproteinen in der Follikelflüssigkeit durchgeführt, was bis jetzt in der Literatur nicht beschrieben ist. Es konnte damit bestätigt werden, daß die Lipoproteine der Follikelflüssigkeit nicht nur in

bezug auf ihr Verhalten bei der Ultrazentrifugation den Lipoproteinen des Serums entsprechen, sondern daß dies auch für ihre Ausfällbarkeit mit Dextransulfat gilt. Die Anwendung der selektiven Ausfällung in der Follikelflüssigkeit stellt auch hier eine deutliche Erleichterung bei der Isolierung der Lipoproteine dar.

5.2 β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration im Serum und in der Milch

Die Ergebnisse von Versuch I und III zeigen, daß die Konzentration von β -Carotin im Serum, anders als die von Vitamin A, keiner Homöostase unterliegt, sondern deutlichen Änderungen in Abhängigkeit von der Fütterung und damit von der Jahreszeit unterworfen ist. Im Sommer, bei der Aufnahme β -carotinreichen Futters auf der Weide, ist die Serumkonzentration bedeutend höher als im Winter, wenn vor allem Heu und Silage verfüttert werden. Diese jahreszeitlichen Schwankungen als Ausdruck der β -Carotin-Versorgung spiegeln sich auch in der β -Carotin-Konzentration der Milch wider. Die Ergebnisse für das Serum und die Milch entsprechen damit den Ergebnissen in der Literatur (KURZ et al., 1984).

Die vergleichsweise niedrige β -Carotin-Konzentration bei den Bullen wurden bereits von SUTTON und SOLDNER (1945) festgestellt. Da die β -Carotin-Versorgung der Bullen in etwa mit der der weiblichen Tiere im Winter übereinstimmt, müssen bei männlichen Tieren noch andere Gründe für die niedrigen β -Carotin-Konzentrationen vorliegen.

Der deutliche Unterschied in der β -Carotin-Konzentration des Serums zwischen den Mutterkühen und ihren Kälbern ist damit zu erklären, daß für das Saugkalb die Milch zunächst die einzige β -Carotin-Quelle darstellt und erst allmählich β -carotinreiches Weidegras aufgenommen wird. Hierfür spricht auch die signifikant positive Korrelation zwischen dem Alter der Kälber und der β -Carotin-Konzentration im Serum.

Im Gegensatz dazu zeigt die Vitamin-A-Konzentration des Serums und der Milch keine von der Jahreszeit abhängigen Schwankungen. Dies bestätigt den Regelmechanismus für den Vitamin-A-Spiegel des Serums (SMITH & GOODMAN, 1979). Der höhere Vitamin-A-Blutspiegel für die Wintergruppe von Versuch III kann nicht erklärt werden; eine methodische Ursache ist nicht auszuschließen.

Die deutlich niedrigeren Vitamin-A-Konzentrationen im Serum der Saugkälber als Ausdruck einer Mangelversorgung zu interpretieren, ist ohne die Untersuchung der Leberreserven nicht möglich. Ursache für die niedrigeren Vitamin-A-Konzentrationen könnte eine fehlende oder mangelhafte Umwandlung von β -Carotin in Vitamin A sein, wie sie von LUNDQUIST und PHILLIPS (1943) beim bis zu 40 Tage alten Kalb beobachtet wurde. Andererseits könnte beim Kalb auch der Vitamin-A-Blutspiegel aufgrund einer geringeren Konzentration des Transportproteins (RBP) physiologisch niedriger liegen. Untersuchungen darüber gibt es nicht.

Der signifikante Abfall der Konzentration von β -Carotin im Serum um den Geburtszeitpunkt in Versuch II zeigt deutlich, daß nicht nur die Fütterung, sondern auch die Ausscheidung über das Kolostrum den β -Carotin-Blutspiegel wesentlich beeinflussen. Entsprechendes gilt auch für den

Abfall der Vitamin-A-Konzentration im Serum um den Geburtszeitpunkt. Diese Ergebnisse für β -Carotin und Vitamin A im Serum und die vielfach höheren β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentrationen im Kolostrum mit ihrem raschen Abfall innerhalb weniger Tage bestätigen die Literaturangaben (KONERMANN & ABU EL FADLE, 1966; BURGSTALLER et al., 1980; ZUCKER et al., 1980).

5.3 Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen im Serum sowie Transfer in das Kolostrum und die Follikelflüssigkeit

Die Ergebnisse von Versuch I zeigen, daß die Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen von Rasse, Geschlecht, Fütterung, β -Carotin-Spiegel im Serum und β -Carotin-Ausscheidung über die Milch unabhängig ist. Dies wurde bereits mit einer anderen Methode von KURZ et al. (1984) festgestellt. Die konstante Verteilung bedeutet, daß keine der Lipoproteinfraktionen ihre maximale Transportkapazität erreicht hat, was mit Ergebnissen für den Menschen übereinstimmt (MATHEWS-ROTH & GULBRANDSEN, 1974). Jeweils die quantitativ bedeutendste Lipoproteinfraktion transportiert prozentual gesehen den größten Anteil des β -Carotins. Beim Menschen ist dies die LDL-Fraktion (KRINSKY et al., 1958). beim Rind dagegen ist es die HDL-Fraktion.

Verschiebungen in der Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen spiegeln also immer eine Änderung des Anteils einer Lipoproteinfraktion an den gesamten Lipoproteinen wider. Diese Überlegungen werden auch durch die Verdreifachung des Anteils der VLDL-Fraktion am Transport des β -Carotins in Versuch II während des Zeitraumes

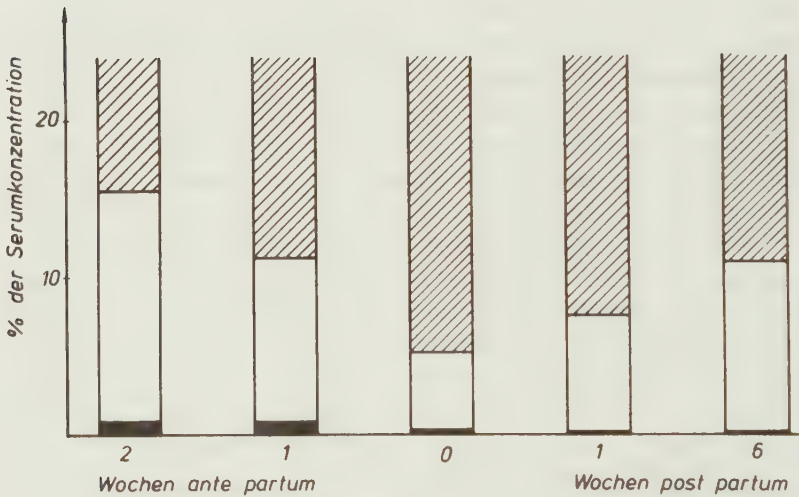
des Trockenstehens unterstützt, was mit RAPHAEL et al. (1973) übereinstimmt, die in diesem Zeitraum eine quantitative Verdreifachung dieser Fraktion fanden. Auch die nicht quantifizierte Beobachtung, daß zur Geburt hin weniger Lipoproteine ausfielen, sowie die Feststellung von größeren Mengen Präzipitates bei den Saugkälbern sprechen für diese Überlegung.

Die deutliche Verschiebung der Verteilung von β -Carotin zugunsten der VLDL/LDL-Fraktion beim Saugkalb, der Nachweis von Chylomikronen und das opaleszierende Aussehen des Serums ähnlich der postprandialen Lipämie des Monogastriers deuten darauf hin, daß beim Saugkalb, durch die Aufnahme von großen Mengen von Fett (40 - 50 % der Energie) und durch die noch unvollständige Ausbildung der Vormägen, die Verdauung und Resorption von Fett der des Monogastriers entspricht. Es kommt deshalb im Gegensatz zum erwachsenen Wiederkäuer beim Saugkalb zu einer diskontinuierlichen Aufnahme von Fett mit einem entsprechenden Anstieg der Chylomikronen im Serum. Dies wird durch neueste Ergebnisse von BAUCHART und LEVIEUX (1985) bestätigt, die beim Saugkalb sowohl Chylomikronen nachweisen als auch einen bedeutend größeren Anteil von VLDL und LDL an den gesamten Lipoproteinen feststellen konnten.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung haben gezeigt, daß es in den Tagen vor der Geburt, also in der Zeit der Bildung des β -carotinreichen Kolostrums, parallel zur Abnahme der β -Carotin-Konzentration im Serum zu einer signifikanten Abnahme des Anteils der LDL-Fraktion am Transport des β -Carotins kommt. Der Anteil der VLDL-Fraktion bleibt bis zum ersten Melken nach der Geburt unverändert hoch (Abb. 8). Dies legt den Schluß nahe, daß β -Carotin, zumindest bei der Bildung des Kolostrums, nicht wie die Triglyceride durch den Abbau der VLDL-Fraktion an das

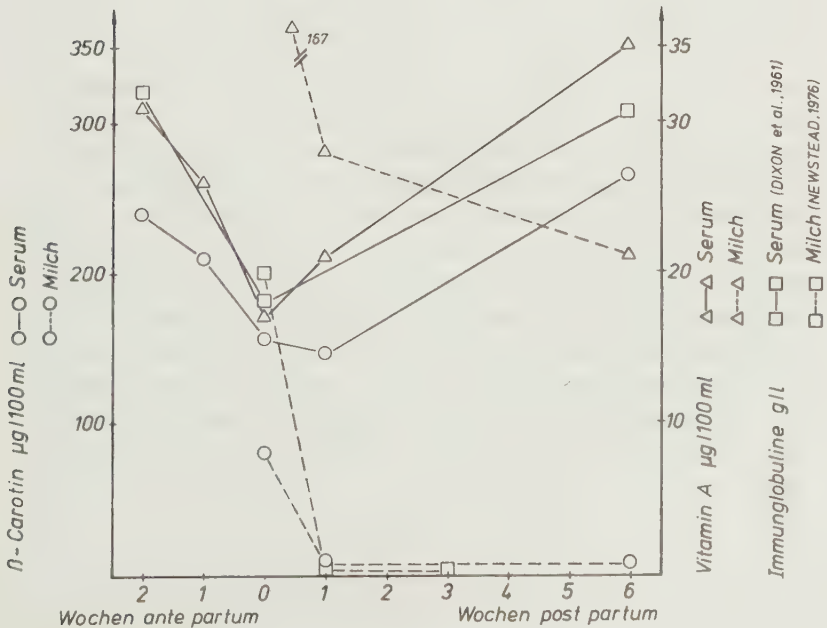
Euter abgegeben wird, sondern über die LDL-Fraktion. Für den Abbau der LDL-Fraktion sind entsprechende Rezeptoren notwendig, die im Zusammenhang mit dem Cholesterinstoffwechsel der Zelle eingehend untersucht wurden (GOLDSTEIN & BROWN, 1977).

Abb. 8: Verteilung von β -Carotin auf die Serumlipoproteinfractionen um die Geburt als Mittelwert von 12 Kühen. VLDL:  , LDL:  HDL: 



Vergleicht man das Verhalten von Vitamin A und β -Carotin mit dem der Immunglobuline, so fällt die deutliche Übereinstimmung auf (Abb. 9). Sowohl für Vitamin A und β -Carotin, als auch für IgG1 (DIXON et al., 1961) kommt es vor der Geburt zu einem deutlichen Abfall in der Serumkonzentration. Bei allen drei Substanzen sind die Kolostrumkonzentrationen stark erhöht und fallen in den ersten Tagen nach der Geburt rasch ab (NEWSTEAD, 1976; ZUCKER et al., 1980).

Abb. 9: Konzentration von Vitamin A, β -Carotin und Immunglobulinen im Serum und im Kolostrum bzw. in der Milch um die Geburt



Für den Transfer der IgG1-Fraktion der Immunglobuline in das Kolostrum wird ein selektiver Mechanismus mit spezifischen IgG1-Rezeptoren angenommen. Dieser Mechanismus setzt etwa 2 bis 3 Wochen vor der Geburt ein (LARSON et al., 1980) und wird vom Östrogen- und Progesteron-Blutspiegel geregelt (SMITH, 1971). Die rezeptorgebundene Aufnahme von RBP-gebundenem Vitamin A durch die Zellen des Eutergewebes wird für das Rind von BRANSTETTER et al. (1973) vermutet und durch VAHLQUIST und NILSSON (1979) für den Rhesusaffen bestätigt.

Aufgrund der Ergebnisse für IgG1 und Vitamin A kann auch für das sich entsprechend verhaltende β -Carotin eine spezifische LDL-gebundene Aufnahme durch die Euterzelle angenommen werden, wobei die Rezeptorzahl für alle drei Substanzen zur Bildung des Kolostrums stark erhöht ist. Damit wird die von KONERMANN und ABU EL FADLE (1966) und BURGSTALLER et al. (1980) festgestellte Bedeutung von β -Carotin für das neugeborene Kalb unterstrichen.

Eine lipoproteinabhängige Aufnahme von β -Carotin durch das Corpus luteum wurde bereits von JACKSON et al. (1981) in Erwägung gezogen. Aufgrund unserer Ergebnisse scheint sich diese Überlegung zu erhärten. Eine lipoproteingebundene Aufnahme von β -Carotin würde auch eine Erklärung für die einmalig hohe β -Carotin-Konzentration im Corpus luteum bieten. Sie ist als sekundäre Begleiterscheinung der zur Steroidproduktion notwendigen reichlichen Aufnahme von lipoproteingebundenem Cholesterin zu verstehen (KOVANEN et al., 1979; STRAUSS et al. 1981). Das Cholesterin wird dabei metabolisiert, β -Carotin dagegen bleibt weitgehend unverändert erhalten und konzentriert sich so im Corpus luteum.

Untersuchungen über die Bindung von β -Carotin in der Follikelflüssigkeit des Rindes haben gezeigt, daß diese ausschließlich an HDL gebundenes β -Carotin enthält. Auch andere Untersuchungen ergaben, daß von den Serumlipoproteinen nur HDL die Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke passieren kann. SHALGI et al. (1973) gehen dabei davon aus, daß es sich bei der Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke um ein Molekularsieb handele, welches Substanzen mit einem Molekulargewicht von mehr als 850 000 daltons vom Transfer ausschließt. Die Konzentration von HDL in der Follikelflüssigkeit beträgt 59 % der Serumkonzentration (SAVION et al., 1982). Basierend auf einem Transfer von 59 % der HDL-Fraktion in die Follikelflüssigkeit und einer Bindung von etwa 82 % des β -Carotins im Serum an HDL würde die rechnerisch ermittelte Konzentration für β -Carotin in der Follikelflüssigkeit 48 % betragen. Mit etwa 36 % für normale Follikel und 42 % für pathologisch veränderte Follikel liegen unsere Werte nicht wesentlich unter den errechneten Werten. Der in normalen Follikeln gefundene Wert für β -Carotin von 36 % der Serumkonzentration bestätigt Ergebnisse von CHEW et al. (1984).

Mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,97$ entspricht die Korrelation zwischen β -Carotin im Serum und in der Follikelflüssigkeit der anderer Proteine, die aus dem Blut stammen. Wie die Blutbestandteile der Follikelflüssigkeit, so ist auch β -Carotin von der jeweiligen Serumkonzentration abhängig, aber unabhängig von der Größe und dem Entwicklungsstand der Follikel. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß β -Carotin an HDL gebunden in die Follikelflüssigkeit gelangt.

5.4 B-Carotin- und Vitamin-A-Stoffwechsel des ovariellen Rinderfollikels

Bei den Bestandteilen der Follikelflüssigkeit unterscheidet man aufgrund ihres Ursprunges zwei Gruppen. Die eine Gruppe sind die Blutbestandteile, zu denen die Elektrolyte, die Vitamine und die Proteine einschließlich der Lipoproteine gehören. Die zweite Gruppe sind die Produkte des Granulosazellstoffwechsels, zu denen vor allem die Steroidhormone zu rechnen sind.

B-Carotin zeigt im Follikel ein Verhalten, wie es von anderen Blutbestandteilen her bekannt ist. Seine Konzentration in der Follikelflüssigkeit ist proportional zur Serumkonzentration und von der jeweiligen Größe und Qualität der Follikel unabhängig.

Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse für Vitamin A, dessen Konzentration in der Follikelflüssigkeit von der jeweiligen Qualität der Follikel abhängig ist. In atretischen Follikeln war die Vitamin-A-Konzentration ebenso wie in pathologisch veränderten zystösen Follikeln deutlich niedriger als in den nicht atretischen Follikeln.

Diese Abhängigkeit einer Substanz in der Follikelflüssigkeit von der Follikelqualität und damit auch weitgehend von der Follikelgröße konnte bis jetzt nur bei Hormonen beobachtet werden. In atretischen Follikeln war die Syntheseleistung der Granulosazellen für Steroide deutlich vermindert (KRUIP & DIELEMAN, 1982). Was sich bei den Ergebnissen für Vitamin A zeigte, daß jeweils nur einer der größeren Follikel eines Ovarienpaares hohe Vitamin-A-Konzentrationen besaß, fanden IRELAND und ROCHE (1983)

auch für die Steroidhormone im Follikel. Sie gehen davon aus, daß derjenige Follikel, der die hohen Steroidhormonkonzentration aufwies, der Follikel sei, der später ovulieren wird.

Die niedrige Konzentration von Vitamin A in atretischen Follikeln und die nur wenig höhere Konzentration in Follikelzysten zeigen, daß für die hohe Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit ein funktionierender Granulosazellstoffwechsel notwendig ist. Da eine de novo Synthese von Vitamin A im Organismus nicht möglich ist, liegt die Vermutung nahe, daß Vitamin A in der Follikelflüssigkeit durch eine Spaltung der Vitamin-A-Vorstufe β -Carotin in den Granulosazellen entsteht. Der von SKLAN (1983) geführte Nachweis eines carotinspaltenden Enzymes in den Zellen des Corpus luteum unterstützt diese Hypothese, weil die Zellen des Corpus luteum modifizierte Granulosazellen sind (HANSEL et al., 1973). Bei pathologisch veränderten, zystösen Follikeln ist die verminderte Enzymaktivität zu berücksichtigen (CAUCIG et al., 1972). Die höhere Konzentration des Substrates β -Carotin und die niedrigere Konzentration von Vitamin A in der Zystenflüssigkeit beruhen deshalb möglicherweise auf dieser verminderten Enzymaktivität.

Die zweite Möglichkeit besteht in einem vermehrten Transfer von RBP/PA-gebundenem Vitamin A aus dem Serum in die Follikelflüssigkeit großer nicht atretischer Follikel. Ein ähnlicher Transportmechanismus an der Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke ist nicht bekannt und wäre insofern einzigartig, als andere Proteine mit einem ähnlichen Molekulargewicht wie der RBP/PA-Komplex in ihrer Konzentration von der Follikelgröße unabhängig sind (ANDERSEN et al., 1976). Deshalb wird ein spezifischer Transportmechanismus an der Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke als weniger wahrscheinlich betrachtet.

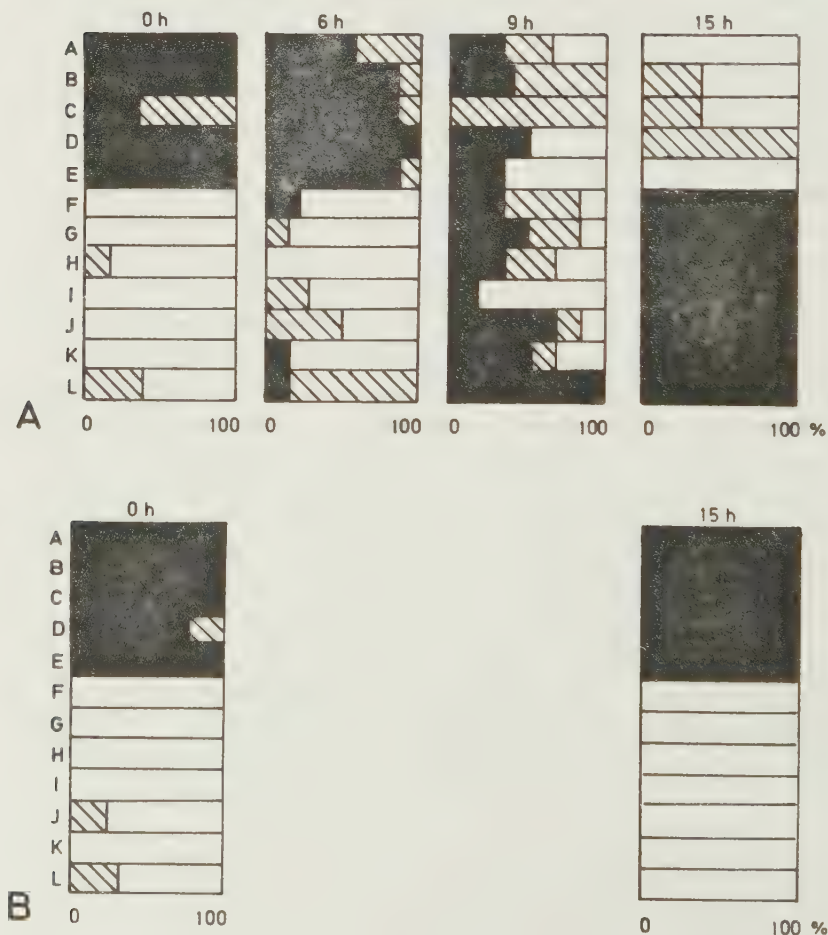
Die Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit, die zwischen 49 % der Serumkonzentration in den kleinen und 77 % in den großen Follikeln liegt, ist mit den Ergebnissen von CHEW et al. (1984) vergleichbar, die in gepoolter Follikelflüssigkeit 63 % der Vitamin-A-Serumkonzentration fanden.

Für β -Carotin haben die Ergebnisse gezeigt, daß es gebunden an HDL die Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke passiert. Würde auch das RBP/PA-gebundene Vitamin A mit einem Molekulargewicht von 75 000 daltons die Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke passieren, so wäre es, wenn man ein Protein mit etwa entsprechendem Molekulargewicht (z.B. das Albumin mit 69 000 daltons) zum Vergleich heranzieht, zu etwa 110 % der Serumkonzentration in der Follikelflüssigkeit anzutreffen. In stark atretischen Follikeln ist jedoch die Vitamin-A-Konzentration bei praktisch unveränderter β -Carotin-Konzentration weit unter den Werten der gepoolten kleinen Follikel der gesamten Gruppe. In einem Follikel konnte sogar überhaupt kein Vitamin A nachgewiesen werden. Dies würde bedeuten, daß alles Vitamin A der Follikelflüssigkeit aus der Spaltung von β -Carotin entsteht und der RBP/PA-Komplex im Gegensatz zu anderen Proteinen vom Transfer in die Follikelflüssigkeit ausgeschlossen wird. Wäre dies der Fall, so müßte die reine Molekularsiebtheorie der Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke (SHALGI et al., 1973) in Frage gestellt werden. Eine solche Blockade des Transfers von Vitamin A aus dem Serum in die Follikelflüssigkeit wäre insofern sinnvoll, als sie sich entwickelnde follikuläre Strukturen vor einer lokalen Vitamin-A-Übersorgung schützt. Ferner wäre durch die Spaltung der nicht-toxischen Vorstufe β -Carotin eine kontrollierte Versorgung der Oozyte und des Follikels mit Vitamin A gegeben.

Aus den Untersuchungen hat sich ergeben, daß die hohe Vitamin-A-Konzentration vor der Ovulation nur in einem nicht atretischen Follikel vorhanden ist. Dies ist sicher der Follikel, der zur Ovulation bestimmt ist. Hierzu stellt sich die Frage nach der Bedeutung der hohen Vitamin-A-Konzentration für die Reifung der Oozyte und die Entwicklung des Follikels. Die Notwendigkeit von Vitamin A für die Fruchtbarkeit ist, im Gegensatz zum genauen Wirkungsmechanismus, hinreichend bekannt (Übersicht bei DE LUCA, 1978). Eine der diskutierten Wirkungsmechanismen von Vitamin A auf molekularer Ebene ist ein Eingriff in die Synthese der m-RNS und damit in die Proteinsynthese ähnlich dem eines Steroidhormons (WOLF, 1984). MOOR und WARNES (1978) berichten über eine mangelhafte Zytoplasmareifung extrafollikulär kultivierter Oozyten (Abb. 10). Wenn also Vitamin A für die Proteinsynthese von Bedeutung wäre, dann müßte ein Mangel an Vitamin A Ursache für die gestörte Zytoplasmareifung sein.

Medien, die zur Oozytenkultur verwendet werden, enthalten, von wenigen Ausnahmen abgesehen (M199: 11,5-14 µg/100 ml; NCTC: 25-29 µg/100 ml und Williams Medium E: 10 µg/100 ml Vitamin-A-Acetat; Serva, Heidelberg und Flow Laboratories), kein Vitamin A. Wie im Serum, so liegt auch in der Follikelflüssigkeit Vitamin A vor allem als Retinol vor (CHEW et al. 1984). Deshalb ist Vitamin-A-Acetat möglicherweise nicht das richtige Substrat. Auch durch die Zugabe von 10 % fetalem Kälberserum, das aufgrund der schlechten diaplacentaren Passage (TIEWS, 1958) bedeutend niedrigere Vitamin-A-Konzentrationen aufweist als das Serum erwachsener Tiere, kann keine physiologische Vitamin-A-Konzentration im Kulturmedium erreicht werden.

Abb. 10: Änderung im Synthesemuster elektrophoretisch aufgetrennter Proteinbanden bei Oozyten von Schafen *in vivo* (A) und in extrafollikulärer Kultur (B) zu verschiedenen Zeiten nach dem LH-Peak. Die Abbildung zeigt den prozentualen Anteil der Oozyten, bei denen die Proteinbanden deutlich vorhanden sind: , schwach vorhanden sind:  oder fehlen:  (MOOR & WARNES, 1978).



Die Ergebnisse und die daraus resultierenden Überlegungen haben gezeigt, daß möglicherweise Vitamin A und nicht β -Carotin der entscheidende Faktor für die Entwicklung der Oozyte und des Follikels des Rindes ist. Trotzdem scheint eine ausreichende Versorgung mit β -Carotin für die Fertilität des Rindes von Bedeutung zu sein.

Ausgehend von der Hypothese, daß ein carotinspaltendes Enzym für den Anstieg von Vitamin A verantwortlich ist, muß β -Carotin im Follikel als Substrat in ausreichender Menge vorhanden sein. Der Transfer von β -Carotin in die Follikelflüssigkeit beträgt unabhängig von der Serumkonzentration etwa 40 %. Deshalb kann bei sehr schlechter β -Carotin-Versorgung - in der Mangelgruppe von LOTTHAMMER (1978) betrug die Serumkonzentration 10-20 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ - die β -Carotin-Konzentration in der Follikelflüssigkeit so niedrig sein, daß zu einer Bildung von Vitamin A nicht mehr genügend Substrat vorhanden ist. Dieser Vitamin-A-Mangel in der Follikelflüssigkeit wäre eine Erklärung einerseits für eine unzureichende Zytoplasmareifung der Oozyte und andererseits für die von SCHAMS et al. (1977) aufgestellte Hypothese einer unzureichenden Bildung proteolytischer Enzyme als Ursache der stark verzögerten Ovulation bei Tieren im β -Carotin-Mangel.

Bei der Wirkung von β -Carotin auf das Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes handelt es sich demnach nicht um eine spezifisch eigenständige Wirkung des β -Carotins, sondern um eine lokale, aber essentielle Provitamin-A-Funktion. Eine Vitamin-A-Substitution könnte in diesem Fall einen β -Carotin-Mangel nicht erfolgreich kompensieren, so daß β -Carotin für das Rind unentbehrlich ist und damit Vitamincharakter besitzt.

5.5 Schlußfolgerung

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß die prozentuale Verteilung des β -Carotins auf die Lipoproteinfraktionen von dem jeweiligen quantitativen Anteil der Fraktionen an den Gesamtlipoproteinen abhängig ist. Die Versorgung der peripheren Gewebe durch die Lipoproteinfraktionen scheint dabei jedoch nicht einheitlich zu erfolgen, sondern je nach Gewebe wird das β -Carotin einer bestimmten Lipoproteinfraktion genutzt. Für das Euter - zumindest während der Bildung des Kolostrums - ist dies die LDL-Fraktion; in der Follikelflüssigkeit dagegen steht nur an HDL gebundenes β -Carotin zur Verfügung. Dies bedeutet, daß nicht nur die Bestimmung der β -Carotin-Konzentration im Serum wichtig ist, sondern auch die Verteilung auf die Lipoproteinfraktionen.

In dieser Arbeit konnte erstmals gezeigt werden, daß die Bildung des Kolostrums eine deutliche Verminderung der LDL-Fraktion zur Folge hat. Daraus wird auf eine verstärkte Metabolisierung dieser Fraktion durch eine Erhöhung der LDL-Rezeptoren im Eutergewebe, ähnlich den Rezeptoren für die Immunglobuline (IgG1) geschlossen.

Der Nachweis einer mehr als doppelt so hohen Vitamin-A-Konzentration in nicht atretischen Follikeln, mit der daraus zu folgernden Hypothese einer lokalen Vitamin-A-Bildung aus β -Carotin, macht eine ausreichende Versorgung der Kühe mit β -Carotin notwendig. Eine Aussage über die mindestens notwendige β -Carotin-Konzentration im Serum kann beim derzeitigen Stand noch nicht getroffen werden. Hierzu bedarf es der Durchführung von Versuchen mit Kühen im β -Carotin-Mangel.

Abgesehen davon, daß mit diesen Ergebnissen ein weiterer Schritt zur Klärung der Bedeutung von β -Carotin für das Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes getan wurde, konnte damit erstmals der Nachweis erbracht werden, daß nicht nur die Steroidhormone Konzentrationsänderungen in der Follikelflüssigkeit in Abhängigkeit von der Follikelqualität unterworfen sind, sondern auch eine nicht hormonelle Substanz, nämlich ein Vitamin. Die hohe Vitamin-A-Konzentration ist auf die nicht atretischen Follikel beschränkt und findet in zystös veränderten Follikeln nicht statt. Deshalb scheint Vitamin A von grundlegender Bedeutung für den ovulierenden Follikel zu sein.

Die lokale Umwandlung von β -Carotin in Vitamin A würde demnach eine genaue Steuerung der Vitamin-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit für die Reifung und die Entwicklung der follikulären Strukturen ermöglichen. Für eine zufriedenstellende Fruchtbarkeit der Rinder ist deshalb neben zahlreichen anderen Faktoren eine ausreichende Versorgung mit β -Carotin notwendig.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Konzentration von β -Carotin im Serum und in der Milch war von der Aufnahme über das Futter abhängig, mit hohen Werten im Sommer und niedrigen Werten im Winter. Beim Saugkalb bestand zwischen der Konzentration von β -Carotin im Serum und dem Alter der Tiere eine deutliche Korrelation. Die Vitamin-A-Konzentration war bei ihnen signifikant niedriger als bei den Muttertieren.

Durch selektive Ausfällung der Lipoproteinfraktionen mit Dextransulfat und durch anschließende Ultrazentrifugation konnte gezeigt werden, daß die Verteilung von β -Carotin auf VLDL, LDL und HDL unabhängig von Rasse, Geschlecht und β -Carotin-Konzentration im Serum war. Im Gegensatz zum Menschen, bei dem LDL den größten Anteil von β -Carotin transportiert, war dies beim Rind mit über 80 % das HDL.

Während des Trockenstehens kam es zu einem Anstieg des Anteils von VLDL bzw. LDL am Transport von β -Carotin auf etwa 1 % bzw. 14 %. Innerhalb von drei Wochen vor der Geburt sank der Anteil von LDL am Transport auf etwa 5 % bis zum Geburtszeitpunkt, während der Anteil von VLDL bis zum ersten Melken konstant hoch blieb. Deshalb wird ein LDL-gebundener Transfer von β -Carotin in das Euter zur Bildung des β -carotinreichen Kolostrums postuliert. Es wird dabei von einer Erhöhung der Rezeptorzahl für LDL - entsprechend den Immunglobulinen - ausgegangen.

Beim Saugkalb war der Anteil von VLDL und LDL mit zusammen 27 % signifikant erhöht. Zusätzlich konnten hier Chylomikronen nachgewiesen werden, die weniger als 1 % des β -Carotins transportierten.

In der Follikelflüssigkeit konnte nur an HDL gebundenes β -Carotin nachgewiesen werden. Ein passiver Transfer von HDL-gebundenem β -Carotin über die Blut-Follikelflüssigkeits-Schranke wird deshalb angenommen. Vitamin A ist in der Follikelflüssigkeit wie im Serum an ein Protein gebunden.

Zur Untersuchung des Vitamin-A-Stoffwechsels im Follikel wurde die Konzentration von Vitamin A und seiner Vorstufe β -Carotin im Serum, in Zystenflüssigkeit und in unterschiedlich großen Follikeln bestimmt. Während die Konzentration von β -Carotin von der Größe der Follikel unabhängig war, kam es bei Vitamin A zu einem signifikanten Anstieg in Abhängigkeit von der Follikelgröße, mit den höchsten Werten in den großen Follikeln. Zwischen der Konzentration von β -Carotin in der Follikelflüssigkeit und der Konzentration im Serum bestand eine signifikante Korrelation.

Bei Follikeln unterschiedlicher Qualität fanden sich die höchsten Vitamin-A-Konzentrationen in den nicht atretischen Follikeln ($31 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$), die niedrigsten Vitamin-A-Konzentrationen hingegen ($13 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) in den stark atretischen Follikeln. Die Konzentration von β -Carotin war von der Follikelqualität unabhängig. In zystös veränderten Follikeln war die β -Carotin-Konzentration signifikant höher als in der Follikelflüssigkeit, das Vitamin A dagegen deutlich niedriger als in den großen Follikeln.

Für die Bildung von Vitamin A in der Follikelflüssigkeit wird eine Spaltung von β -Carotin durch eine Carotinase angenommen, die eine genaue Steuerung der Vitamin-A-Konzentration im ovulierenden Follikel für die Reifung und Differenzierung der follikulären Strukturen ermöglicht. β -Carotin besitzt deshalb im Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes eine lokale, essentielle Provitamin-A-Funktion.

SUMMARY

B-CAROTENE METABOLISM IN CATTLE: DISTRIBUTION AMONG THE SERUMLIPOPROTEINS, TRANSFER INTO MILK AND FOLLICULAR FLUID AND FUNCTION IN THE FOLLICLE

The concentration of β -carotene in serum and milk was found to be a function of β -carotene intake, with high values in summer and low values in winter. In suckling calves β -carotene concentration in serum was closely correlated with the age of the animals. The concentration of vitamin A was significantly lower than in the dams.

By way of selective precipitation with dextran sulfate in conjunction with ultracentrifugation β -carotene could be found in all three serum lipoprotein fractions. This distribution was independent of breed, sex and β -carotene concentration in blood. Contrary to man, where most of the β -carotene is transported by LDL, in cattle more than 80 % are transported by HDL.

During the dry period the proportion of VLDL and LDL in the transport of β -carotene increased to about 1 % and 14 %, respectively. About three weeks before birth LDL decreased to 5 % around birth, while VLDL remained unchanged at its high level until the first milking. Based on these results LDL-bound β -carotene is postulated to be transferred to colostrum by way of an increase of LDL-receptors in the mammary gland similar to immunoglobulins.

In suckling calves the proportion of β -carotene in VLDL and LDL was increased to about 27 %. In addition chylomicrones could be detected in calves which bound less than 1 % of β -carotene.

In follicular fluid only HDL-bound β -carotene could be detected. A passive transfer of β -carotene across the blood-follicular barrier is assumed. As in serum, vitamin A in follicular fluid is bound to a protein.

To investigate the vitamin A metabolism in follicles concentrations of vitamin A and its precursor β -carotene were assayed in serum, in fluid of follicular cysts and in follicular fluid of variably-sized follicles. Contrary to β -carotene, which showed no change in concentration, vitamin A increased significantly as a function of follicle size, with the highest concentrations in the large follicles. The concentrations of β -carotene in follicular fluid were closely correlated with concentrations in serum.

By determining β -carotene and vitamin A in follicles of different quality it could be shown that vitamin A concentrations were a function of follicle quality, with high values ($31 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) in non-atretic follicles and low values ($13 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) in heavily-atretic ones. In cystic follicles β -carotene was higher than in follicular fluid and vitamin A was lower than in follicular fluid of large follicles.

The high concentrations of vitamin A are assumed to be the result of a conversion of β -carotene to vitamin A by a carotene cleaving enzyme. Since this high concentration of vitamin A occurs only in the non-atretic follicles this phenomenon seems to be of importance for oocyte maturation and follicular development. An essential local provitamin A function of β -carotene in bovine fertility is therefore to be postulated.

7 LITERATURVERZEICHNIS

AHLSWEDE, L. und K.-H. LOTTHAMMER (1978)

Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes.

5. Mitteilung: Organuntersuchungen (Ovarien, Corpora Lutea, Leber, Fettgewebe, Uterussekret, Nebennieren) - Gewichts- und Gehaltsbestimmungen

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 85, 7-12

ANDERSEN, M.M., J. KRØLL, G. BYSKOV and M. FABER (1976)

Protein composition in the fluid of individual bovine follicles

J. Reprod. Fert. 48, 109-118

ASHES, J.R., R.W. BURLEY, J.B. DAVENPORT and G.S. SIDHU (1982)

Effects of dietary supplements of protected lipids on the concentration and transport of β -carotene and cholesterol in bovine blood and milk: unusual chromatographic behaviour of the high-density lipoprotein with high levels of β -carotene

J. Dairy Res. 49, 39-49

ASHES, J.R., R.W. BURLEY, G.S. SIDHU and R.W. SLEIGH (1984)

Effect of particle size and lipid composition of bovine blood high density lipoprotein on its function as a carrier of β -carotene

Biochem. Biophysic. Acta 797, 171-177

BAUCHART, D. et D. LEVIEUX (1985)

Lipoprotéines plasmatiques du veau préruminant

Reprod. Nutr. Dévelop. 25, 243-250

BRANSTETTER, R.F., R.E. TUCKER, G.E. MITCHELL, JR., J.A. BOLING and N.W. BRADLEY (1973)

Vitamin A transfer from cows to calves

Internat. J. Vit. Nutr. Res. 43, 142-146

BROGGEMANN, J. und K.-H. NIESAR (1955)

Der Nachweis eines den Vitamin A-Gehalt der Milch beeinflussenden Faktors im Eutergewebe des Rindes
Milchwissenschaft **10**, 223-225

BROGGEMANN, J. und K.-H. NIESAR (1956)

Über die Beziehungen der Vitamine A und E und des β -Karotins zum weiblichen Sexualzyklus des Rindes und Schweines unter besonderer Berücksichtigung der Zyklussterilität
Vitam. Horm. **7**, 10-25

BURGSTALLER, G., P. MATZKE, W. HOLLWICH, J. KÖGEL, O. KREUTZBERG und H. ZUCKER (1980)

Untersuchungen zur Versorgung von Milchkühen mit β -Carotin und Vitamin A. 1. Mitteilung: Einfluß auf den Blutspiegel
Zbl. Vet. Med. A **27**, 485-494

BURSTEIN, M. et J. SAMAILLE (1957)

Sur la précipitation sélective des β -lipoprotéines du sérum par l'héparine et les héparinoides de synthèse en présence du Cl_2Ca
J. Physiol. Path. gén. **49**, 83-86

BURSTEIN, M. and H.R. SCHOLNICK (1973)

Lipoprotein-polyanion-metal interactions
Adv. Lipid Res. **11**, 67-108

CARAVAGLIOS, R. and R. CILOTTI (1957)

A study of the proteins in the follicular fluid of the cow
J. Endocrin. **15**, 273-278

CAUCIG, H., F. FRIEDRICH, G. BREITENECKER and E. GOLOB (1972):

Enzyme activity in the fluid of the human ovarian follicle
Gynec. Invest. **3**, 215-220

- CERLETTI, P. and L. ZICHELLA (1961)
Nucleotidases, nucleotides, vitamins and coenzymes in the follicular fluid of human ovary
Clin. Chim. Acta **6**, 581-582
- CHANDA, R. (1953 a)
The partition of carotenoids and vitamin A in the colostrum and milk of the cow and the goat
J. agric. Sci., Camb. **43**, 54-71
- CHANDA, R. (1953 b)
The effect of mastitis on the carotenoids, vitamin A and phosphorus compounds of milk
Biochem. J. **54**, 68-77
- CHAPLIN, R.K. and D.L. PALMQUIST (1971)
zitiert bei PALMQUIST, D.L. (1976)
A kinetic concept of lipid transport in ruminants. A review
J. Dairy Sci. **59**, 355-363
- CHEW, B.P., D.M. HOLPUCH and J.V. O'FALLON (1984)
Vitamin A and β -carotene in bovine and porcine plasma, liver, corpora lutea and follicular fluid
J. Dairy Sci. **67**, 1316-1322
- CHYTIL, F. and D.E. ONG (1979)
Cellular retinol- and retinoic acid-binding proteins in vitamin A action
Federation Proc. **38**, 2510-2514
- DESJARDINS, C., K.T. KIRTON and H.D. HAFS (1966)
Some chemical, immunochemical and electrophoretic properties of bovine follicular fluid
J. Reprod. Fert. **11**, 237-244

DE LUCA L.M. (1978)

Vitamin A. In: Handbook of lipid research 2. The fat-soluble vitamins, Ed. DeLUCA, H.F., Plenum Press N.Y., pp. 1-67

DIXON, F.J., W.O. WEIGLE and J.J. VAZQUEZ (1961)

Metabolism and mammary secretion of serum proteins in the cow
Lab. Invest. **10**, 216-237

EG-ANALYSENKOMMISSION (1972)

Bestimmung von Retinol (Vitamin A)
Arbeitspapier Nr. 2120/VI

FERRERI, L.F. and R.C. ELBEIN (1982)

Fractionation of plasma triglyceride-rich lipoproteins of the dairy cows: evidence of chylomicron-size particles
J. Dairy Sci. **65**, 1912-1920

FOLMAN, Y., J. ASCARELLI, Z. HERZ, M. ROSENBERG, M. DAVIDSON and A. HALEVI (1979)

Fertility of dairy heifers given a commercial diet free of β -carotene.
Br. J. Nutr. **41**, 353-359

FREDRICKSON, D.S. and R.S. GORDON, JR. (1958)

Transport of fatty acids
Physiol. Rev. **38**, 585-630

GANGULY, J. and P.S. SASTRY (1985)

Mechanism of conversion of β -carotene into vitamin A- central cleavage versus random cleavage
Wld Rev. Nutr. Diet. **45**, 198-220

GERSHOFF, S.N., S.B. ANDRUS, D.M. HEGSTED and E.A. LENTINI (1957)

Vitamin A deficiency in cats
Lab. Invest. **6**, 227-240

GLASCOCK, R.F. and V.A. WELCH (1974)

Contribution of the fatty acids of three low density serum lipoproteins in bovine milk fat

J. Dairy Sci. **57**, 1364-1370

GLEOCKLER, D.H., L.F. FERRERI and E. FLAIM (1980)

Lipoprotein patterns in normal lactating holstein cows bled at various times: effects of milking

Proc. Soc. exp. Biol. Med. **165**, 118-122

GOLDSTEIN, J.L. and M.S.BROWN (1977)

The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis

Ann. Rev. Biochem. **46**, 897-930

GRIEL, L.C., JR. and R.D. MCCARTHY (1969)

Blood serum lipoproteins: a review

J. Dairy Sci. **52**, 1233-1243

HANSEL, W., P.W. CONCANNON and J.H. LUKASZEWSKA (1973)

Corpora lutea of the large domestic animals

Biol. Reprod. **8**, 222-245

HARTMANN, P.E., J.G. HARRIS and A.K. LASCELLES (1966)

The effect of oil-feeding and starvation on the composition and output of lipid in thoracic duct lymph in the lactating cow

Aust. J. Biol. Sci. **19**, 635-644

HATCH, F.T. and R.S. LEES (1968)

Practical methods for plasma lipoprotein analysis

Adv. Lipid Res. **6**, 1-68

HAVEL, R.J., H.A. EDER and J.H. BRAGDON (1955)

The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum

J. Clin. Invest. **34**, 1345-1353

HAVEL, R.J., J.P. KANE and M.L. KASHYAP (1973)

Interchange of apolipoproteins between chylomicrons and high density lipoproteins during alimentary lipemia in man
J. Clin. Invest. **52**, 32-38

HENDERSON, K.M., A.S. McNEILLY and I.A. SWANSTON (1982)

Gonadotrophin and steroid concentrations in bovine follicular fluid and their relationship to follicle size
J. Reprod. Fert. **65**, 467-473

HILL, P. and D. DVORNIK (1969)

Agents affecting lipid metabolism XXXVII.
Separation of rat serum lipoproteins with dextran sulfate
Can. J. Biochem. **47**, 1043-1047

IRELAND, J.J., P.B. COULSON and R.L. MURPHREE (1979)

Follicular development during four stages of the estrous cycle of beef cattle
J. Anim. Sci. **49**, 1261-1269

IRELAND, J.J., R.L. MURPHEE and P.B. COULSON (1980)

Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum
J. Dairy Sci. **63**, 155-160

IRELAND, J.J. and J.F. ROCHE (1983)

Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: changes in concentration of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles
J. Anim. Sci. **57**, 157-167

JACKSON, P.S., B.J.A. FURR and C.T. JOHNSON (1981)

Endocrine and ovarian changes in dairy cattle fed a low β -carotene diet during an oestrus synchronisation regime
Res. vet. Sci. **31**, 377-383

- JENSEN, R.G. and R.E. PITAS (1976)
Milk lipoprotein lipases: a review
J. Dairy Sci. **59**, 1203-1214
- KONERMANN, H. und W. ABU EL FADLE (1966)
Die Bedeutung von Karotin und Vitamin A für die Darm-
erkrankungen der Saugkälber
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **73**, 543-546
- KOVANEN, P.T., S.K. BASU, J.L. GOLDSTEIN and M.S. BROWN (1979)
Low density lipoprotein receptors in bovine adrenal cortex.
II. Low density lipoprotein binding to membranes prepared
from fresh tissue
Endocrinology **104**, 610-616
- KRINSKY, N.I., D.G. CORNWELL and J.L. ONCLEY (1958)
The transport of vitamin A and carotenoids in human plasma
Archs Biochem. Biophys. **73**, 233-246
- KRITCHEVSKY, D., S.A. TEPPER, P. ALAUPOVIC and R.H. FURMAN (1963)
Cholesterol content of human serum lipoproteins obtained by dextran
sulfate precipitation and by preparative ultracentrifugation
Proc. Soc. exp. Biol. Med. **112**, 259-262
- KRUIP, Th.A.M. and S.J. DIELEMAN (1982)
Macroscopic classification of bovine follicles and its validation
by micromorphological and steroid biochemical procedures
Reprod. Nutr. Dévelop. **22**, 465-473
- KURZ E., W.A. RAMBECK und H. ZUCKER (1984)
Verteilung des β -Carotins auf die Serumlipoproteine bei Milchkühen
Zbl. Vet. Med. A **31**, 174-181

LARSON, B.L., H.L. HEARY, JR. and J.E. DEVERY (1980)

Immunoglobulin production and transport by the mammary gland
J. Dairy Sci. **63**, 665-671

LOTTHAMMER, K.-H. (1978)

Zur Bedeutung des β -Carotins für die Fruchtbarkeit des Milchrindes
Tierzüchter **12**, 520-529

LOTTHAMMER, K.-H. und L. AHLSEWEDE (1977)

Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige
Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes
3. Mitteilung: Blutserumuntersuchungen (β -Carotin, Vitamin A,
SGOT, Gesamtcholesterin, Glukose, anorganischer Phosphor)
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **84**, 220-226

LOTTHAMMER, K.-H., L. AHLSEWEDE und H. MEYER (1976)

Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige
Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes
2. Mitteilung: Weitere klinische Befunde und Befruchtungs-
ergebnisse (Versuch III)
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **83**, 353-358

LUNDQUIST, N.S. and P.H. PHILLIPS (1943)

Certain dietary factors essential for the growing calf
J. Dairy Sci. **26**, 1023-1030

MATHEWS-ROTH, M.M. (1982)

Antitumor activity of β -carotene, canthaxanthin and phytoene
Oncology **39**, 33-37

MATHEWS-ROTH, M.M. and C.L. GULBRANDSEN (1974)

Transport of beta-carotene in serum of individuals with carotenemia
Clin. Chem. **20**, 1578-1579

McNATTY, K.P. and R.S. SAWERS (1975)

Relationship between the endocrine environment within the Graafian follicle and the subsequent rate progesterone secretion by human granulosa cells in vitro
J. Endocrinol. **66**, 391-400

MEYER, H., L.AHLSWEDE und K.-H. LOTTHAMMER (1975)

Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes
1. Mitteilung: Versuchsanstellung, Körperentwicklung und Eierstocksfunktion
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **82**, 444-449

MOOR, R.M. and G.M. WARNES (1978)

Regulation of oocyte maturation in mammals. In: Control of ovulation, Eds D.B. CRIGHTON et al., Butterworths, London pp. 159-176

MOORE, T. (1930)

LXXIX. Vitamin A and Carotene
VI. The conversion of carotene to vitamin A in vivo
Biochem. J. **24**, 692-702

NEWSTEAD, D.F. (1976)

Carotene and immunoglobulin concentrations in the colostrum and milk of pasture-fed cows
J. Dairy Res. **43**, 229-237

NOBLE, R.P. (1968)

Electrophoretic separation of plasma lipoproteins in agarose gel
J. Lipid Res. **9**, 693-700

OKAZAKI, M., Y. OHONO and I. HARA (1980)

High-performance aqueous gel permeation chromatography of human serum lipoproteins
J. Chromat. **221**, 257-264

OLSON, J.A. and O. HAYAISHI (1965)

The enzymatic cleavage of β -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine

Proc. N.A.S. **54**, 1364-1370

ONG, D.E. and F. CHYTIL (1975)

Specificity of cellular retinol-binding protein for compounds with vitamin A activity

Nature **255**, 74-75

ÖZPINAR, H., W. GEDEK, W.A. RAMBECK und H. ZUCKER (1984)

Einfluß der subklinischen Mastitis auf den β -Carotingehalt der Milch bei Kühen.

Zbl. Vet. Med. A **31**, 705-711

PALMQUIST, D.L. (1976)

A kinetic concept of lipid transport in ruminants. A review

J. Dairy Sci. **59**, 355-363

PALMQUIST, D.L. and W. MATTOS (1978)

Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows

J. Dairy Sci. **61**, 561-565

PASCU, T., D. MIHAI et H. LUNCA (1969)

Concentration du sodium et du potassium dans le liquide folliculaire normal et dans le liquide des kystes folliculaires ovariens, ainsi que dans le sang des même vaches

Rec. Méd. Vét. **145**, 1283-1291

PASCU, T., M. SUTÉANU et H. LUNCA (1970)

Concentration de la vitamin C dans le liquide folliculaire normal, pendant les différentes phases du cycle oestral et dans le liquide des kystes ovariens (folliculaires et lutéiniques), ainsi que dans le sang des même vaches

Rec. Méd. Vét. **146**, 1021-1029

PATTON, S. and J.J. KELLY (1980)

Carotene in bovine milk fat globules: observations on origin
and high content in tissue mitochondria
Lipids **15**, 33-38

PETO, R., R. DOLL, J.D. BUCKLEY and M.B. SPORN (1981)

Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates?
Nature **290**, 201-208

RADDING, C.M. and D. STEINBERG (1960)

Studies on the synthesis and secretion of serum lipoproteins
by rat liver slices
J. Clin. Invest. **39**, 1560-1569

RAPHAEL, B.C., P.S. DIMICK and D.L. PUPPIONE (1973)

Lipid characterization of bovine serum lipoproteins throughout
gestation and lactation
J. Dairy Sci. **56**, 1025-1032

SACHS, L. (1974)

Angewandte Statistik
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York

SAKAGAMI, T. and D.B. ZILVERSMIT (1961)

Separation of dog serum lipoproteins by ultracentrifugation,
dextran sulfate precipitation and paper electrophoresis
J. Lipid Res. **2**, 271-277

SAVION, N., R. LAHERTY, D. COHEN, G.-M. LUI and D. GOSPODAROWICZ (1982)

Role of lipoproteins and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A
reductase in progesterone production by cultured bovine
granulosa cells
Endocrinology **110**, 13-22

- SCHAMS, D., B. HOFFMANN, K.-H. LOTTHAMMER und L. AHLWEDE (1977)
Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige
Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes
4. Mitteilung: Auswirkung auf hormonale Parameter
während des Zyklus
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **84**, 307-310
- SHALGI, R., P. KRAICER, A. RIMON, M. PINTO and N. SOFERMAN (1973)
Proteins of human follicular fluid: the blood-follicle barrier
Fert. Steril. **24**, 429-434
- SHALGI, R., P.F. KRAICER and N. SOFERMAN (1972)
Gases and electrolytes of human follicular fluid
J. Reprod. Fert. **28**, 335-340
- SKLAN, D. (1983)
Carotene cleavage activity in the corpus luteum of cattle
Internat. J. Vit. Nutr. Res. **53**, 23-26
- SMITH, J.E. and D.S. GOODMAN (1979)
Retinol-binding protein and the regulation of vitamin A transport
Federation Proc. **38**, 2504-2509
- SMITH, K.L. (1971)
Role of estrogen in the selective transport of IgG1 into the
mammary gland
J. Dairy Sci. **54**, 1322-1323
- STAMPFER, R. und H. ZUCKER (1983)
Untersuchungen zur Beziehung zwischen β -Carotin im Blut und
in der Milch bei Kühen
Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk. **49**, 140-147
- STEAD, D., M. TAMIR and V.A. WELCH (1978)
Interrelationship between apoproteins of very low density
lipoprotein and other serum lipoproteins in lactating goats
J. Dairy Sci. **61** 1529-1536

- STEAD, D. and V.A. WELCH (1975)
Lipid composition of bovine serum lipoproteins
J. Dairy Sci. **58**, 122-127
- STORRY, J.E., P.E. BRUMBY, B. TUCKLEY, V.A. WELCH, D. STEAD and R.J. FULFORD (1980)
Effect of feeding protected lipid to dairy cows in early lactation on the composition of blood lipoproteins and secretion of fatty acids in milk
J. agric. Sci., Camb. **94**, 503-516
- STRAUSS III, J.F., L.A. SCHULER, M.F. ROSENBLUM and T. TANAKA (1981)
Cholesterol metabolism by ovarian tissue
Adv. Lipid Res. **18**, 99-157
- SUTTON, T.S. and P.A. SOLDNER (1945)
Seasonal variations in the blood plasma carotene and vitamin A of adult dairy cattle
J. Dairy Sci. **28**, 859-867
- THIELE, O.W. and RADAŠ (1975)
Failure of quantitative precipitation of β -lipoproteins from bovine serum by heparin and calcium chloride
Zbl. Vet. Med. A **22**, 776-779
- THOMPSON, J.N., J.McC. HOWELL and G.A.J. PITT (1964)
Vitamin A and reproduction in rats
Proc. R. Soc. **159**, 510-535
- TIEWS, J. (1958)
Die fettlöslichen Vitamine der Milch
Zuchthygiene **2**, 323-328

TIEWS, J. (1961)

Vitamin A-Wirksamkeit der Carotine bei verschiedenen Tierarten
in: Carotine und Carotinoide, Ed. K. LANG, Steinkopff Verlag Darmstadt
pp. 235-262

TIEWS, J. und C. ZENTZ (1967)

Die Mikrobestimmung von Vitamin A im Blutserum und Leberpunktaten
mit FeCl_3 in Acetylchlorid
Int. Ztschr. f. Vit. Forschung **37**, 307-314

VAHLQUIST, A. and S. NILSSON (1979)

Mechanisms for vitamin A transfer from blood to milk in rhesus monkeys
J. Nutr. **109**, 1456-1463

WALD, G. (1968)

Molecular basis of visual excitation
Science **162**, 230-239

WEST, C.E., R. BICKERSTAFFE, E.F. ANNISON and J.L. LINZELL (1972)

Studies on the mode of uptake of blood triglycerides by the
mammary gland of the lactating goat
Biochem. J. **126**, 477-490

WOLF, G. (1984)

Multiple functions of vitamin A
Physiol. Rev. **64**, 873-937

ZUCKER, H., O. KREUTZBERG, W. HOLLWICH, D. MATZKE, J. KÜGEL und
G. BURGSTALLER (1980)

Untersuchungen zur Versorgung von Milchkühen mit β -Carotin und
Vitamin A. 2. Mitteilung: Einfluß auf Konzentration in der
Milch sowie klinisch-gynäkologische und hormonanalytische Befunde
Zbl. Vet. Med. A **27**, 525-533

Tab. I.1: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Milch
sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfractionen
Betrieb: Grub
Tag der Probennahme: 9.4.1984

Rasse: Deutsches Fleckvieh
Geschlecht: ♀

β -CAROTIN

VITAMIN A

Nr.	β -CAROTIN			VITAMIN A	
	Serum	VLDL/LDL	HDL	Milch	Milch
AA 1	110	5	93	3	27
AA 2	85	9	70	3	13
AA 3	86	7	71	4	26
AA 4	125	17	107	3	26
AA 5	144	14	109	6	33
AA 6	104	8	90	4	32
AA 7	119	15	97	3	34
AA 8	74	12	65	-	-
AA 9	63	7	51	-	-
AA10	248	26	200	-	-
AA11	59	13	45	-	-
AA12	111	16	90	-	-

Tab. I.2: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum
 sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen
 Betrieb: Westerschondorf
 Rasse: AB = Deutsches Braunvieh
 AC = Deutsches Fleckvieh
 Tag der Probennahme: 11/18.4.1984
 Geschlecht: ♂

Nr.	B-CAROTIN			VITAMIN A	
	Serum	VLDL/LDL	HDL	Serum	
AB 1	30	3	22	32	
AB 2	18	3	16	23	
AB 3	25	3	17	18	
AB 4	23	3	18	26	
AB 5	21	2	16	32	
AB 6	29	2	25	26	
AB 7	34	3	30	35	
AC 1	21	6	15	25	
AC 2	20	2	15	27	
AC 3	27	3	23	39	
AC 4	30	4	23	34	
AC 5	33	3	27	38	
AC 6	39	3	27	35	
AC 7	23	3	18	25	

Tab. I.3: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Milch sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen
 Betrieb: Oberschleißheim
 Rasse: Deutsche Schwarzbunte
 Geschlecht: ♀
 Tag der Probennahme: 13.4.1984

Nr.	β -CAROTIN			VITAMIN A	
	Serum	VLDL/LDL	HDL	Milch	Milch
AD 1	146	9	126	3	38
AD 2	194	20	163	3	36
AD 3	113	9	94	2	39
AD 4	242	27	194	4	38
AD 5	163	10	138	4	44
AD 6	180	7	158	4	46
AD 7	256	30	216	4	35
AD 8	185	23	138	3	42
AD 9	178	18	157	3	41
AD10	235	31	187	4	46
AD11	286	39	227	3	26
AD12	184	18	151	4	38

Tab. I.4: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Milch sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen
 Betrieb: Grub
 Rasse: Deutsches Fleckvieh
 Tag der Probennahme: 4.9.1984
 Geschlecht: ♀

Nr.	β -CAROTIN				VITAMIN A	
	Serum	VLDL/LDL	HDL	Milch	Serum	Milch
AE 1	1134	112	1006	28	43	51
AE 2	737	93	603	26	39	32
AE 3	456	50	400	14	40	27
AE 4	1314	140	1052	20	41	38
AE 5	754	75	665	40	36	50
AE 6	472	56	392	9	52	28
AE 7	699	141	548	trocken	56	trocken
AE 8	606	64	526	38	38	77
AE 9	443	49	375	22	27	32
AE10	1108	115	888	17	38	31
AE11	441	43	374	10	23	20
AE12	414	52	310	10	38	26
AE13	598	50	501	12	46	30
AE14	748	101	620	6	55	27
AE15	969	67	823	16	47	32
AE16	598	105	466	13	47	41

Tab. I.5: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen
 Betrieb: Mutterkuhherde Acheleschwaig
 Tag der Probennahme: 3.10.1984
 Rasse: Deutsches Fleckvieh
 Geschlecht: ♀

Nr.	β -CAROTIN				VITAMIN A	
	Serum	VLDL	LDL	HDL	Serum	
AF 1	881	2,5	126	678	46	
AF 2	1014	3,5	110	889	62	
AF 8	1001	2,4	80	904	38	
AF10	1294	3,1	155	1076	43	
AF12	1373	3,1	130	1203	37	
AF15	653	3,0	77	540	43	
AF16	793	0,9	107	632	24	
AF19	1696	-	231 ^a	1406	35	
AF20	1450	2,4	175	1132	35	
AF21	952	2,9	137	802	43	
AF23	436	0,9	31	400	15	
AF25	751	2,7	157	540	27	

^a VLDL+LDL

Tab. I.6: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum
sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfractionen
Betrieb: Mutterkuherde Acheleschwaig Rasse: Deutsche Fleckviehkälber
Tag der Probennahme: 3.10.1984 Geschlecht: ♂, ♀

Nr.	Alter Tage	B-CAROTIN			VITAMIN A	
		Serum	VLDL/LDL	HDL	Serum	
AFK 1	39	126	28	87	24	
AFK 2	49	282	75	176	24	
AFK 4	83	588	208	316	22	
AFK 8	51	272	67	159	24	
AFK10	72	281	93	141	23	
AFK12a	27	109	36	43	15	
AFK12b	27	208	47	116	22	
AFK14	68	296	90	185	14	
AFK15	23	136	48	71	17	
AFK16	16	45	10	27	15	
AFK20	85	702	139	378	25	
AFK21	84	337	111	346	20	
AFK23	59	238	85	146	16	
AFK24	34	94	15	68	18	

Tab. II.1: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Milch sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen um die Geburt

Nr.	Tag	Serum	B-CAROTIN			VITAMIN A		
			VLDL	LDL	HDL	Milch	Serum	Milch
BA 1	13a.p.	450	3,8	73	332	tr.	29	tr.
BA 2	7a.p.	380	3,1	53	265	tr.	27	tr.
BA 3	Geburt	204	-	-	-	125	14	126
BA 4	6p.p.	193	0,4	14	163	13	17	26
BA 5	40p.p	427	0,5	51	255	1	23	10
BB 1	10a.p.	136	1,6	17	111	tr.	24	tr.
BB 2	4a.p.	116	1,4	13	98	tr.	22	tr.
BB 3	Geburt	90	0,2	5	86	41	12	61
BB 4	6p.p.	60	0,2	3	65	6	13	21
BB 5	40p.p.	99	0,1	9	93	2	29	17
BC 1	14a.p.	231	0,8	52	158	tr.	26	tr.
BC 2	6a.p.	217	1,1	33	139	tr.	28	tr.
BC 3	Geburt	151	0,2	9	107	48	16	47
BC 4	6p.p.	-	-	-	-	8	-	25
BC 5	34p.p.	197	0,2	39	128	3	14	18

n.d. : unter der Nachweisgrenze; tr.: trockenstehend

Tab. II.2: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Milch sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfractionen um die Geburt

Nr.	Tag	B-CAROTIN				VITAMIN A		
		Serum	VLDL	LDL	HDL	Milch	Serum	Milch
BE 1	14a.p.	155	0,7	13	118	tr.	18	tr.
BE 2	7a.p.	180	0,5	25	119	tr.	21	tr.
BE 3	Geburt	121	0,2	11	948	79	14	291
BE 4	6p.p.	102	0,2	9	911	6	18	26
BE 5	40p.p.	145	0,2	15	125	n.d.	16	6
BF 1	16a.p.	340	2,3	40	303	tr.	19	tr.
BF 2	11a.p.	307	1,5	28	265	tr.	18	tr.
BF 3	Geburt	272	0,5	21	248	105	14	231
BF 4	8p.p.	214	0,3	19	199	10	13	31
BF 5	34p.p.	321	0,4	40	246	4	23	16
BG 1	15a.p.	148	0,6	23	124	tr.	21	tr.
BG 2	7a.p.	176	0,7	28	139	tr.	32	tr.
BG 3	Geburt	151	0,1	9	137	44	30	83
BG 4	6p.p.	126	0,1	14	83	3	33	21
BG 5	32p.p.	147	0,2	25	119	n.d.	42	10

n.d.: unter der Nachweisgrenze; tr.: trockenstehend

Tab. II.3: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Milch sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen um die Geburt

Nr.	Tag	B-CAROTIN				VITAMIN A	
		Serum	VLDL	LDL	HDL	Milch	Serum Milch
BI 1	12a.p.	143	0,6	15	117	tr.	34 tr.
BI 2	6a.p.	134	0,6	13	112	tr.	29 tr.
BI 3	Geburt	110	0,1	6	96	62	17 211
BI 4	6p.p.	102	n.d.	8	82	3	11 21
BK 1	13a.p.	212	0,5	29	174	tr.	27 tr.
BK 2	7a.p.	187	0,6	22	168	tr.	24 tr.
BK 3	Geburt	168	-	7	148	102	21 64
BK 4	4p.p.	152	-	13	140	10	22 16
BL 1	12a.p.	237	2,8	54	171	tr.	31 tr.
BL 2	6a.p.	160	1,7	18	137	tr.	27 tr.
BL 3	Geburt	148	0,2	7	132	31	13 214
BL 4	6p.p.	126	0,2	7	115	-	18 -
BL 5	34p.p.	267	0,4	34	213	n.d.	39 20

n.d.: unter der Nachweisgrenze; tr.: trockenstehend

Tab. II.4: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Milch sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen um die Geburt

Nr.	Tag	β -CAROTIN				VITAMIN A		
		Serum	VLDL	LDL	HDL	Milch	Serum	Milch
BN 1	11a.p.	260	1,4	31	226	tr.	30	tr.
BN 2	4a.p.	237	1,6	25	208	tr.	29	tr.
BN 3	Geburt	208	0,1	12	204	35	22	54
BN 4	6p.p.	184	0,2	9	170	11	30	8
BN 5	40p.p.	249	1,2	20	221	26	47	8
BS12	18a.p.	333	3,0	52	268	tr.	37	tr.
BS14	5a.p.	203	2,4	15	169	tr.	13	tr.
BS17	Geburt	151	n.d.	n.d.	134	195	8	173
BS20	5p.p.	208	0,3	13	190	5	16	28
BS25	32p.p.	421	0,6	56	332	13	38	34

n.d.: unter der Nachweisgrenze; tr.: trockenstehend

Tab. II.5: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Milch sowie Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfractionen um die Geburt

Nr.	Tag	B-CAROTIN			HDL	Milch	VITAMIN A	
		Serum	VLDL	LDL			Serum	Milch
BT 1	76a.p.	309	1,4	47	219	-*	35	-*
BT 2	70a.p.	287	0,9	37	240	5	30	29
BT 3	68a.p.	274	0,9	40	213	-*	31	-*
BT 5	63a.p.	277	1,1	42	246	3	28	8
BT 6	61a.p.	308	2,5	44	259	tr.	33	tr.
BT 9	54a.p.	309	1,4	52	242	tr.	43	tr.
BT11	34a.p.	299	2,7	55	229	tr.	30	tr.
BT13	19a.p.	272	2,2	50	214	tr.	39	tr.
BT18	9a.p.	225	1,9	24	196	tr.	30	tr.
BT19	7a.p.	220	2,0	20	188	tr.	30	tr.
BT20	5a.p.	215	1,7	20	188	tr.	32	tr.
BT21	3a.p.	186	1,5	15	165	tr.	29	tr.
BT22	1a.p.	136	1,9	5	119	tr.	20	tr.
BT23	Geburt	114	0,6	4	109	104	15	270
BT24	1p.p.	120	0,2	6	113	21	14	60
BT25	2p.p.	117	0,3	8	118	16	15	72
BT26	4p.p.	143	0,2	13	133	11	20	61
BT28	8p.p.	165	0,3	12	143	4	27	77
BT30	16p.p.	218	0,3	18	174	-	35	-
BT32	44p.p	363	0,9	52	301	11	40	37

tr.: trockenstehend; -*: nicht gemolken

Tab. III.1: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit: Zyklusstadium III, Sommerfütterung

Nr.	Serum	B-CAROTIN			Serum	VITAMIN A		
		klein	Follikel mittel	groß		klein	Follikel mittel	groß
CS 6a	1092	332	327		42	27	24	
CS12a	1115	374	289		40	18	26	
CS19a	1350	482		432	34	18		33
CS22a	759	311	346		16	7	16	
CS25a	1524	489	594		56	26	30	
CS27a	1747	578	603		34	13	19	
CS28a	1793	519	499		22	7	20	
CS30a	1991	556		578	24	20		21
CS 5b	1407	429		502	36	15		21
CS 8b	924	310		316	28	16		17
CS10b	1621	528	558		20	8	10	
CS21b	542	236	215		28	8	17	
CS25b	998	279	374		45	31	23	
CS33b	1887	680	955		38	16	25	

Tab. III.2: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit: Zyklusstadium IV, Sommerfütterung

Nr.	Serum	B-CAROTIN			Serum	VITAMIN A		
		klein	Follikel mittel	groß		klein	Follikel mittel	groß
CS 1a	224	116	128		20	12	13	
CS 2a	344		112	127	47		35	26
CS 9a	959	394		273	41	26	35	
CS10a	467			197	23			11
CS13a	245	113	150	103	37	19	18	32
CS14a	2008	533		746	47	26		24
CS15a	2452	1056		787	42	18		38
CS17a	147	53		55	52	30	28	
CS20a	1149	482		343	38	10		29
CS23a	1118	381	345		33	20	24	

Tab. III.3: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit: Zyklusstadium IV, Sommerfütterung

Nr.	Serum	B-CAROTIN			Serum	VITAMIN A		
		klein	Follikel mittel	groß		klein	Follikel mittel	groß
CS 1b	1529	517		522	43	19		34
CS 2b	2434	612		681	31	16		22
CS 6b	289	92		108	33	16		28
CS 7b	296	100		90	33	14		29
CS 9b	1085	439		417	30	11		27
CS11b	1098	367	425		27	14	20	
CS12b	1097	335		423	19	10		14
CS14b	1064	365		402	29	17		14
CS18b	1214	459		448	38	15		31
CS19b	734	256		305	24	10		17
CS22b	248	103		116	41	21		25
CS24b	1057	388		375	32	22		18

Tab. III.4: β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit: Zyklusstadium III, Winterfütterung

Nr.	Serum	β -CAROTIN			Serum	VITAMIN A		
		klein	Follikel mittel	groß		klein	Follikel mittel	groß
CW 3	324	138	140		41	21	33	
CW19	86	28	28		71	35	57	
CW21	219	74		71	51	30		43
CW28	162	56	56		35	25	30	
CW39	180	59		58	57	21		32
CW41	323	112		193	37	12		24
CW51	148	56		63	36	27		26
CW56	400	149		133	41	12		31
CW59	304	112	105		21	9	17	
CW60	464	66		73	32	16		16
CW63	270	137	107		24	15	25	
CW66	213	62		60	40	15		30
CW71	180	64	68		22	15		9
CW85	446	143		138	29	11		24
CW90	83	31		31	42	20		36
CW97	157	48		39	45	23		34

Tab. III.5: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit: Zyklusstadium IV, Winterfütterung

Nr.	Serum	B-CAROTIN			Serum	VITAMIN A		
		klein	Follikel mittel	groß		klein	Follikel mittel	groß
CW 1	120	53		50	37	26		42
CW13	315	123		103	38	19		26
CW17	190	62		62	37	29		48
CW20	93	37		36	37	17		29
CW22	213	75		79	60	32		34
CW23	48	25		23	33	17		28
CW27	174	51		43	50	27		43
CW36	113	35		32	38	17		26
CW40	200	63	60		45	17	25	
CW46	559	178		206	27	10		24
CW52	55	26		23	31	17		30
CW61	133	53		55	32	16		30

Tab. III.6: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit: Zyklusstadium IV, Winterfütterung

Nr.	Serum	β -CAROTIN			Serum	VITAMIN A		
		klein	mittel	groß		klein	mittel	groß
CW65	303	97		98	19	12		16
CW68	261	100		93	43	23		28
CW70	294	95		93	33	18		23
CW73	208	78		63	35	18		21
CW79	248	70		74	32	16		23
CW86	427	133		133	42	17		31
CW88	294	96		107	32	23		23
CW91	551	154		169	57	32		48
CW92	251	98		83	39	14		22
CW93	536	187		155	36	19		25
CW94	208	71		72	38	16		30

Tab. III.7: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) im Serum und in der Zystenflüssigkeit: Winterfütterung

B-CAROTIN

VITAMIN A

Nr.	Serum	Zyste	Serum	Zyste
CW 4	609	234	33	23
CW 7	141	51	37	25
CW30	64	24	36	17
CW33	132	56	28	19
CW34	75	48	31	14
CW37	567	177	25	18
CW55	389	115	44	29
CW58	306	158	41	26
CW84	208	107	12	13
CW89	203	97	55	31
CW99	268	95	53	22
CW 3a	231	105	36	19
CW 7a	527	212	43	26
CW24a	123	48	40	24
CW33a	326	197	60	38
CW48a	374	93	44	28

Tab. III.8: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit von kleinen und unterschiedlichen, größeren Follikeln

Nr.	β -CAROTIN		VITAMIN A	
	Serum	Follikel klein ($< 5\text{ mm}$)	Serum	Follikel klein ($< 5\text{ mm}$)
				$> 5\text{ mm}$
4d	262	94	28	15
				26
				20
6d	298	95	18	12
				15
				9
8d	105	31	21	9
				15
				5
11d	86	31	33	19
				30
				16
18d	422	155	32	13
				18
				10
19d	741	214	18	7
				13
				6
34d	413	179	41	24
				40
				26
				18

Tab. III.9: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) im Serum und in der Follikelflüssigkeit von kleinen und unterschiedlichen, größeren Follikeln

Nr.	β -CAROTIN		VITAMIN A	
	Serum	Follikel klein ($< 5\text{ mm}$) $> 5\text{ mm}$	Serum klein ($< 5\text{ mm}$) $> 5\text{ mm}$	Follikel klein ($< 5\text{ mm}$) $> 5\text{ mm}$
42d	130	48	45	25
				38
				20
45d	294	128	24	9
				18
				9
51d	156	50	23	11
				20
				12
52d	118	43	21	10
				13
				6
55d	118	50	11	5
				6
				4
60d	699	269	29	10
				26
				24
				13

Tab. IV.1: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) in makroskopisch klassifizierten Follikeln unterschiedlicher Größe (Werte in Klammern in cm)

Nr.	β -CAROTIN			VITAMIN A		
	nicht atretisch	leicht atretisch	stark atretisch	nicht atretisch	leicht atretisch	stark atretisch
5a	227	224		32 (1,5)	22 (1,4)	
6a		182	228		34 (1,3)	16 (0,6)
10a	449	424		28 (1,5)	10 (1,6)	
13a	349	445		22 (2,1)	15 (1,1)	
1b		571	614		35 (1,4)	8 (0,7)
		703			12 (1,0)	
		485			8 (0,5)	
6b	269	302	326	34 (0,7)	17 (1,0)	15 (0,8)
	353			24 (0,4)		
	283			41 (0,7)		
	298			35 (0,7)		
8c	43	94	29	30 (1,3)	20 (0,7)	15 (0,7)
			37			19 (0,8)
			24			14 (0,6)

Tab. IV.2: β -Carotin- und Vitamin-A-Konzentration ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) in makroskopisch klassifizierten Follikeln unterschiedlicher Größe (Werte in Klammern in cm)

Nr.	β -CAROTIN			VITAMIN A		
	nicht atretisch	leicht atretisch	stark atretisch	nicht atretisch	leicht atretisch	stark atretisch
11c	356	360 338	401	23 (0,7)	27 (1,0) 21 (0,7)	17 (1,5)
12c	232 225		232 230	28 (1,1) 27 (1,1)		16 (0,9) 12 (0,8)
15c	301	351	295 302	22 (1,3)	12 (0,9)	8 (1,7) 12 (0,8)
2d	265		234	41 (1,1)		9 (1,2)
3d	293 313		279	27 (1,0) 30 (1,1)		24 (0,8)
4d	302		342	36 (0,6)		
9d	298 347		319	30 (0,7) 38 (1,3)		20 (1,7) 18 (1,3)

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. H. Zucker, möchte ich ganz herzlich für die Einführung in das Gebiet der Carotinoide sowie für seine Unterstützung und Ermutigung bei der Durchführung dieser Arbeit danken.

Herrn Dr. rer. nat. Dr. med. vet. habil. W.A. Rambeck danke ich für wertvolle Ratschläge.

Herrn Dr. Th.A.M. Kruip an der Klinik für Geburtshilfe und Künstliche Besamung in Utrecht/Holland danke ich für seine Einführung in die Arbeit mit Follikeln.

Mein Dank gilt auch meiner Kollegin Frau Angela Lutterbach vom Institut für Tierzucht für die ergebnisreiche Zusammenarbeit.

Ferner bedanke ich mich bei

Herrn Prof. Dr. H. Kräußlich und Herrn Prof. Dr. J. Meyer und ihren Mitarbeitern sowie den Leitern der Staatsbetriebe Grub und Schwaiganger und deren Mitarbeitern für die hilfreiche Unterstützung bei der Probennahme,

Herrn Prof. Dr. G. Wolfram und seiner Mitarbeiterin Frau Dr. S. Hailer für die Durchführung von Elektrophoresen,

Herrn Prof. Dr. K. Osterkorn und Herrn J. Stanglmeier für die statistische Auswertung der Daten,

Frau Antje Wetzel und Frä. Andrea Bachhuber für die Unterstützung bei der technischen Durchführung.

Die Anfertigung dieser Arbeit wurde durch ein Stipendium der Hanns-Seidel-Stiftung unterstützt, wofür ich ebenfalls meinen Dank ausspreche.

LEBENS LAUF

Florian Johannes Schweigert	geb. am 8. März 1958 in München
Eltern	Karl Schweigert, Wirtschaftsprüfer Christine Schweigert, geb. Feistner
Schulbildung	1964 bis 1977 Waldorf-Schule München
Abitur	1978 Oskar-von-Miller-Gymnasium München
Universitätsstudium	1978 bis 1983 an der Tiermedizinische Fakultät der Universität München mit Staatsexamen im Dezember 1983
Approbation	6. Februar 1984
Stipendium	Seit April 1984 Stipendiat der Hanns-Seidel-Stiftung
Berufstätigkeit	Seit Juni 1985 als vollbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tier- medizinischen Fakultät München

